

■ 李承森 主编

植物科学进展

(第四卷)

ADVANCES IN PLANT SCIENCES Vol. 4



CHEP
高等教育出版社



Springer
施普林格出版社

《植物科学进展》编委会

顾问 吴征镒 张新时 许智宏 肖培根 匡廷云
洪德元 王文采 郝水 蒋有绪 朱大保

主编 李承森

副主编 陈家宽 林金星 祖元刚
顾红雅 王宇飞 林金安

编委 (按姓氏笔划排序)

王士俊	王仁卿	王凤春	王幼群	王印政
王全喜	王青锋	王德利	左家哺	白书农
刘公社	刘启新	刘博林	安树青	朱玉贤
闫章才	余懋群	吴庆余	吴晓东	吴雪梅
吴鸿	李俊清	李冠	李凌浩	李德铎
杨昉	杨亲二	杨继	陆树刚	陈永喆
陈建群	陈放	陈晓亚	范六民	周永红
杭悦宇	郑海雷	郝小江	施苏华	施国新
唐亚	赵南先	徐正尧	郭友好	高玉葆
阎秀峰	黄百渠	傅承新	葛颂	韩兴国
谭仁祥	潘晓玲	魏令波		

编者的话

《植物科学进展》第四卷的完成也像她的前三卷一样,得到植物学界前辈科学家、中青年学者和编委们的大力支持。从本书第一卷问世至今四年多的时间在生物演化的长河里不过是短短的一瞬间,然而对于《植物科学进展》来讲,这的确像幼童从坐到站,从爬到走的学步阶段。多少前辈的呵护和扶持、理解和宽容,才使百花园里的这棵幼苗逐渐成长起来!

当前,植物科学的研究论文比比皆是;植物科学期刊之花竞相盛开;植物科学的成就之果累累枝头。在如此千帆竞发、百舸争流的植物科学研究领域,《植物科学进展》的定位何在?今天互联网的魅力风靡全球,从网上快捷地查询和下载科学文献已经普及。在如此高效传递信息的时代,《植物科学进展》的作用何在?我们每年的编委会会议,不仅讨论如何提高本书的水平,而且也在思考这些问题。

我国植物科学领域的期刊和书籍犹如百花齐放。各类学报级刊物构成我国植物科学研究的国家级层面上的信息网。我们认为《植物科学进展》的定位不同于这些学报,她不是以发表原创性研究论文为主,而是通过介绍国内外植物科学研究的丰硕成果和最新进展,提出学科发展的科学问题,提供研究思路和方法以及不同学术观点的争论。如果归结为一句话:我们希望《植物科学进展》成为植物科学领域的信息库。

在新世纪里,植物科学作为生命科学的一个重要分支,也同其他学科一样飞速发展。经典学科在更新,新的生长点在诞生,知识积累日新月异。涉足植物科学不同领域就如同在浩瀚的海洋里开辟新航线,急需导航。刚刚步入植物科学殿堂的学子也急需指导。从事其他领域研究的同仁们同样需要植物科学的知识。正是基于这样的考虑,《植物科学进展》在过去的几年里主要致力于介绍植物科学各个分支领域以及其交叉的相关学科领域的研究和进展。

《植物科学进展》刊出的文章基本上遵循了相似的撰写原则。作者努力把握所研究领域的浩瀚文献和最新进展,以自己多年的研究成果和经验为钥匙,充分理解和提出学科发展要解决的科学问题以及解决问题的思路和方法,将本学科成功的过去、奋斗的今天和憧憬的未来以简洁顺达的文字和精美的图表介绍给从事和关注植物科学研究的人们。由此不难看出,《植物科学进展》所奉献的文章同样是艰苦劳动的结晶,是知识、经验和哲理的统一。

《植物科学进展》作为信息库的定位正逐渐被人们所认识。本书在植物科学以及相关学科领域的研究、教学和高级科学普及等方面所起的作用越来越大。很多高等院校把本书列入研究生的参考书目。我们希望年轻的研究生们不仅从本书中猎取知识,而且也将你们读书、思考、探索和研究的心得汇集成文,在此园地里培育和绽放出一朵美丽的鲜花。

细心的读者会发现,《植物科学进展》编委会每年都有新的成员出现。这是因为关心、爱护、支持和帮助《植物科学进展》的年轻人越来越多,他们不仅为本书贡献自己的作品,而且愿意参与本书的编辑工作,这也是我们所热情期待的。

借此《植物科学进展》第四卷出版之际,千言万语化作一句话:最真挚地感谢所有呵护四岁小龄童——《植物科学进展》——茁壮成长的人们!

目 录

I. 系统与演化植物学

MADS-box 基因的进化与植物生殖器官形态建成	汪小全(3)
C ₄ 途径的演化方式	郑文菊 李兴军(15)
藓类植物分子系统学研究进展	王中生 方炎明(25)
麻黄属植物的传粉生物学	杨 永(33)
苏铁科的区系地理研究	王定跃(45)
海南岛岛屿生物地理学研究——特有现象及其边缘效应特征	廖文波 金建华 王伯荪(57)

II. 结构与发育生物学

植物性别分化机制的分子生物学研究	姜 凌 白书农(79)
染色体组分析在小麦族系统分类学研究中的应用	周永红(93)
拟南芥着丝粒的结构特征及功能	张晓红 陈永喆(101)
植物微管动态特性及其调控	黄善金 袁 明(113)
木质素生物合成与植物的生长发育	蔺占兵 徐 洋 贺 萍 马庆虎(123)
树木形成层的活动及其衍生木质部细胞的分化	殷亚方 姜笑梅 魏令波(137)
禾谷类作物非叶器官的结构与功能	李寒冰 胡玉熹 白克智 林金星(149)

III. 生物化学与分子生物学

高等植物的核糖核酸酶	梁丽芝 薛勇彪(161)
β -D-葡聚糖酶及其对植物生长的调节作用	刘希珍 李一勤 周 薇 刘玉军 刘 强(173)
拟南芥生物钟基因 <i>TOC1</i> 的研究进展	袁良琛 陈永喆(183)
植物转基因沉默	谢先芝(191)

IV. 生 理 学

水分亏缺诱导 ABA 积累的细胞逆境信息传递	贾文锁 邢 宇 赵 剑 张建华 张蜀秋(205)
低温下高等植物细胞内 Ca^{2+} 稳态平衡研究进展	刘 炜 孙德兰 王 红 简令成 赵可夫(213)
喜树碱代谢的研究进展	阎秀峰 戴绍军 王 洋 鞠世杰(221)

重金属对植物的毒害机制	徐勤松	施国新(233)
与树木过冷现象有关的植物抗冻机理	赵 琦 孔建强 沈繁宜 张文杰	李 军(245)

V. 生 态 学

森林景观模型研究进展	郭晋平	肖 扬(255)
生物多样性与生态系统功能	王 伟 张治国	王仁卿(271)
草地生态系统管理	李凌浩 李永宏 陈全胜 张 焱 闫志丹 宋世环	白文明(279)
植物与水分关系研究进展	白文明 李凌浩	宋世环(295)
土壤呼吸的测量方法及影响因素	张 焱	李凌浩(303)
水淹干扰生态学研究概览	王正文	李凌浩(311)
树木年代学研究进展	梁尔源 邵雪梅 胡玉熹	林金星(321)
植物外来种研究进展	刘 建 王仁卿	张治国(335)

VI. 资源与利用

水稻超高产育种及其分子生物学基础研究进展	李阳生 李达模	朱英国(347)
中国花卉研究的进展	管开云 欧阳志勤	(359)
中药白芍种质资源研究进展	陈丙奎	杭悦宇(369)
薯蓣属植物遗传繁育研究进展	黄春洪	杭悦宇(377)
黄芩的生药学研究	王如峰	蔡少青(385)
抗除草剂转基因作物基因漂移及其安全性评价技术研究进展	宋小玲	强 胜(393)

I . 系统与演化植物学

MADS-box 基因的进化与植物生殖器官形态建成

汪小全

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室,北京 100093)

Evolution of MADS-box Gene and Development of Reproductive Organ of Plants

Xiaoquan Wang

(Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany,
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

-
- 1 引言
 - 2 系统发育重建中的性状分析
 - 3 形态性状进化的遗传学基础
 - 4 MADS-box 基因家族与植物生殖器官形态建成
 - 5 结语

1 引言

分布于地球的植物不下 30 万种,其中包括很多尚未被发现的植物种。典型的被子植物花从外向内由萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊按顺序排列而成,这一花的形态建成模式在 1989 年以前是公认的被子植物花器官的普遍特征。然而,近年来发现了一种植物 *Lacandonia schismatica* (作为霉草目 Triuridales 中的一个单型科 Lacandoniaceae),其雄蕊和雌蕊的排列顺序与其他被子植物相反,雌蕊在外,雄蕊在内(Martinez, Ramos, 1989)。这一明显例外说明,植物学家还远远没有查明分布于地球上的所有植物种类。特别是热带地区,应当还有大量未被发现的植物种存在。如此多的物种及其复杂的形态变异式样是如何形成的?随着近 10 年来分子系统学(molecular systematics)的飞速发展,植物系统发育重建工作取得了一系列重大突破(Chase *et al.*, 1993; Soltis *et al.*, 1997; Hansen *et al.*, 1999; Mathews, Donoghue, 1999; Barkman *et al.*, 2000),很多用于划分植物界各大类群的形态性状的系统学价值受到质疑。基因树、形态系统树以及物种树间究竟存在何种关系?解决上述问题的关键在于阐明基因水平的变异与形态建成的关系,即有赖于进化发育生物学(evo-devo)及进化发育遗传学

(evodevotics)研究(Holland,1999; Theissen *et al.*,2000)。发育生物学家试图揭示基因表达及功能的改变如何导致生物形态及类型的变化,而进化生物学家力求阐明生物及其形态是如何进化的(Goodman,Coughlin,2000)。基于植物类群间的系统发育关系,可以反过来探讨形态性状的进化过程及规律;基于形态建成基因的基因树结构与形态变异式样的相关分析,可以阐明某一形态性状的多样性是在什么时间及哪一个谱支中发生的。基因水平上究竟发生什么样的变化(进化)才导致形态建成的多样性将成为今后多样性研究的重要课题。越来越多的突变体研究表明:具有重大效应的少数几个位点的变异可以引发形态的巨变(Yao,Dong,Morris,2001),转录因子及启动子的进化可能是一个十分重要而又普遍的机制(Baum,1998)。本文以导致形态多样性的植物形态建成基因的进化为主题,以与植物生殖器官形态建成密切相关的 MADS-box 基因家族为中心,对近年来的研究进展予以述评。

2 系统发育重建中的性状分析

要探讨形态建成基因的进化问题,首先应对现存物种之间的基因进行比较,并重建该基因的系统发育树。性状的同源性及其变异式样的分析是系统发育重建的基础。

将现存物种之间的系统发育关系以时间轴的方式表现出来即为系统树(phylogenetic tree)。如图1所示,在系统树的分枝点上,有过去存在过的祖先物种。物种的分化源于祖先物种基因的一部分发生了变化,现存物种是在拥有部分祖先物种性状(或基因)的同时,又拥有了一些新的性状(或基因),二者结合形成了这一相对新的物种。例如,图1的祖先物种拥有 a、b、c、d、e、f 性状(或基因,以下同),而现存物种 A 因 a、e、f 分别变成了 g、j、k,现存物种 B 因 b、d、f 分别变成了 h、j、k 而发生了进化。对现存物种 A 和 B 进行比较则不难发现,c 为共同拥有的从祖先物种继承下来的性状(共祖征);进化过程中出现的新性状 k,无论是现存物种 A 还是 B 都来源

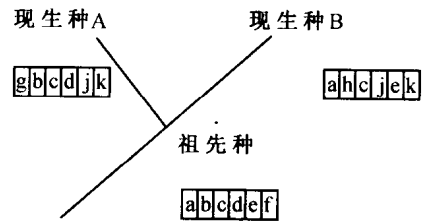


图1 系统树与性状进化

A 和 B 为从祖先种进化而来的 2 个现存种。方框中的字母代表性状及表现这一性状的假设基因位点,其位置与各物种相对应

于祖先物种的 f 性状;而在进化过程中出现的新性状 j,物种 A 中是由祖先物种的性状 e 变化而来的,物种 B 中则是由祖先物种的性状 d 变化而来的。形成性状 j 的进化过程称为趋同进化(从不同的祖先性状向相似性状的进化),而形成性状 k 的进化过程称为平行进化(从同一祖先性状单独向相似性状的进化)。趋同进化源自发生于不同基因的变化而最终形成相似的表现型,而平行进化源自发生于同一基因的变化而最终形成相似的表现型。此外,A 和 B 中各含有与祖先物种共有的性状,如 A 中的 b 和 d,B 中的 a 和 e,而在从祖先物种向现存物种的进化过程中,还分别形成了一些新性状,如 A 中的 g 和 B 中的 h。因此,在对不同物种间的性状进行比较时,至少是在考察其进化历程时,首先必须考虑它们之间的系统发育关系。

几个物种之间共有的性状常拥有共同的祖先,可能是来自祖先的共性。例如,动物和植物在多细胞水平上的形态建成共性为它们的基因调控系统。动物和植物的分化可能发生于单细胞阶段,多细胞动物和多细胞植物是在单细胞动物和单细胞植物的基础上独自进化而来的。这样,在动物和植物中共有的调控系统的形成方式就有两种可能,一种可能是,这一共有调控系统来源于尚未发生动物和植物分化的单细胞阶段,而且这一性状在此后的进化过程中一直保存了下来;另一种可能是这一共有性状出现于动物和植物发生分化之后,通过趋同或平行的方式进化而来。

3 形态性状进化的遗传学基础

在对果蝇同源异型基因群(homeobox gene group)的研究中发现,以转录调节因子及调控蛋白酶等的表达为中心的基因发生突变会引发同源异型突变(homeotic mutation)。植物中,以拟南芥和金鱼草为中心,也分离得到了一些花的同源异型基因(homeotic gene),其中多数为拥有 MADS-box 结构域的转录调节因子。这一发现表明,同源异型突变体中形态性状的巨大变化可能是由发生于转录调节因子等调节系统基因中的变异引起,而较小的变化则是由更下游的基因群中发生的变异引起。

然而,迄今为止得到的形态建成突变体能否用来说明自然条件下实际存在的种间形态建成差异尚无定论。不同植物种间存在的形态差异长期以来一致倍受遗传学家关注,各式各样的表现型受多少种基因的支配可通过杂交实验后的分离比等加以推算。传统的看法是,形态是由大量影响较小的基因构筑起来的,这些形态逐渐发生变化并最终导致形态建成进化。近年来数量性状位点定位分析(quantitative trait locus mapping, QTL 定位分析)的实施提高了分析的可靠性,并发现了一些由少数基因位点中发生的变异引起巨大形态变化的例子(Doebley, 1993)。例如,玉米据推测是由生长于墨西哥的野生型玉米草(teosinte)经栽培驯化而来。玉米和玉米草在分枝方式、花序及种子形态等方面存在巨大差别,最初发现玉米草时甚至将其置于另一个属中。然而,进一步的研究表明,玉米和玉米草之间如此巨大的形态建成差异仅仅源于 5 个数量性状位点(Dorweiler *et al.*, 1993)。

数量性状位点研究中涉及的这些基因是否为与基因表达等有关的调节基因?此外,即使巨大的形态建成进化是由调节系统的基因变异引起,这种变异是如何在群体内传播的?最终能否形成新的物种?这些都是值得探讨的问题。通常情况下,生物在不断适应着环境的变化,持有巨大形态差异的突变体同其他个体相比处于不利于生存的境地,发生突变的基因由于自然淘汰很快会从群体中消亡。因此,引起巨大形态变化的调节基因中,几乎不可能存在多态性。但是,有报道指出,果蝇同源异型基因 *Ultrabithorax* (*Ubx*) 中存在影响转录产物数量的多态性(Tautz, 1996),这一发现受到研究者的广泛关注。*Ubx* 在第三胸成虫原基的表达如果较少,长有羽翼的中胸就会出现重复,羽翼由通常的 2 枚变为 4 枚。此外,还存在另外一个似乎可以对 *Ubx* 表达量进行调控的基因(E 基因),可见 *Ubx* 表达量可能是由多重方式调节的。拥有能使 *Ubx* 表达量下降的变异基因的个体,由于含有可使 *Ubx* 表达量增加的 E 突变基因,其全身只有与野生型相同的 *Ubx* 可以实现表达。因此,虽然该突变体的表现型同野生型一样具有 2 枚羽翼,但 *Ubx* 则很可能拥有多态性。这样的多态性,将来很有可能在遗传漂变等的影响下,固定种群内的特定变异,引发巨大的形态变化。

从现存物种的与形态建成有关的基因分析中可以推测,以转录调节因子为中心的形态建成基因的进化可能与原来持有基因的表达场所、时间以及该基因与其他基因的相互作用的变化有关。目前已经探明,在这一进化过程中,基因组及基因的重复和反式及顺式元件的变化发挥着重要作用。原来的一个基因,如果因基因重复而成为 2 个拷贝,其中 1 个拷贝维持原来的稳定性,另 1 个拷贝则可进化为新基因。这时,顺式或反式元件发生变化,如果这一变化能够引发表达方式的变化,就会引起形态巨变。当然,即便不伴有基因重复,而只发生顺式或反式元件的变化,也有可能引发基因表达方式的重复和变化。此外,位于基因调控系统上游的基因调控系统发生变化后,发生表达方式变化的可能不仅仅是一个基因,而是全部下游基因体系。

实际上,基因重复在生物进化过程中频繁发生,推测细胞核基因的大部分是由一个基因经基因重复而形成的基因家族所构成。至于基因重复是什么时间发生的,可通过物种树与基因树的比较来确定(图 2)。

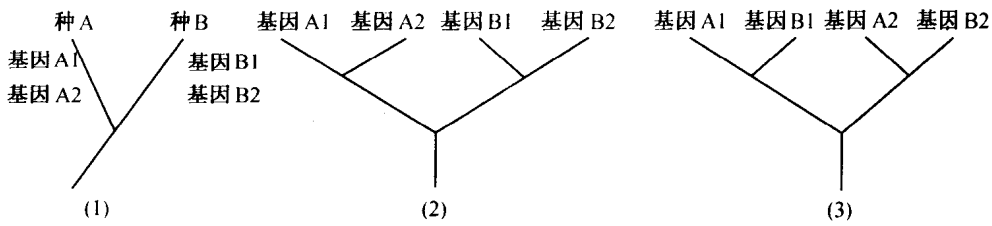


图2 物种树和基因树

(1)物种树:基因 A1、A2 和 B1、B2 分别是种 A 和种 B 携带的基因。(2)基因树表示 A1 和 A2 之间及 B1 和 B2 之间基因的差异发生在种 A 和种 B 分化之后。(3)基因树表示 A1 和 A2 之间及 B1 和 B2 之间的基因差异发生在种 A 和种 B 分化之前

动物的 *HOX/HOM* 基因群是在多种分类群中发现的共有基因调控系统之一。*HOX/HOM* 基因群决定着所有动物躯体的相对位置,也就是说这一基因群与某一具体动物种的形态建成有关。*HOX/HOM* 基因群被称为同源异型框,它含有保守性氨基酸序列,在染色体上形成 8 个左右的同一家族基因集合体(gene cluster)。*HOX* 为脊椎动物的基因群,*HOM* 为果蝇的基因群。数个基因沿动物躯体轴表达,而且这些基因的上述表达方式在迄今为止调查的所有动物中一模一样。Slack 等将这一基因表达方式称为动物式基因表达(zootype gene expression)(Slack *et al.*, 1993),认为这是使动物界具有自身特征的性状。此外,由于从整个动物界的角度看,这一性状不可能是平行进化或趋同进化的结果,推测这种基因表达方式可能在原生动物的(proto-animal)时期就已经确立,并在后代中始终得以保存。到目前为止,植物中虽然尚未发现如此普遍性的、与形态建成有关的基因体系(gene system),但在生殖器官形态建成基因的研究中已取得重要进展。

4 MADS-box 基因家族与植物生殖器官形态建成

生殖器官形态是种子植物分类与系统发育重建研究的主要性状来源,阐明其发育与进化的遗传学基础不仅有助于理解生殖器官形态的多样性与复杂性,而且对系统发育重建研究中性状的同源性判断具有重要参考价值。在过去的 10 年中,基于模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)与金鱼草(*Antirrhinum majus*)的发育突变体的研究,我们对花发育的认识有了长足的进展。通过模式植物花的同源异型突变体的形态及遗传分析,提出了花发育的 ABC 模型(Coen, Meyerowitz, 1991)。正常的花器官发育不仅需要 ABC 基因,而且需要 *SEPALLATA* 基因(Jack, 2001)。已有证据表明:花器官属性基因可分为 4 个不同的类别,分别称作 A-、B-、C- 和 D- 功能基因,它们的成员提供 4 种不同的同源异型功能:A 控制萼片, A + B 控制花瓣, B + C 控制雄蕊, C 控制心皮, D 控制胚珠(Weigel, Meyerowitz, 1994; Angenent, Colombo, 1996)。这 4 类功能基因几乎均属于一个保守的基因家族 MADS-box。

MADS-box 基因家族编码在植物、动物及菌类发育调控中起重要作用的转录因子。其名称源自 4 种蛋白质的首字缩写,即酵母的 *MCM1*、拟南芥的 *AGAMOUS*、金鱼草的 *DEF* (DEFICIENS) 和人类的 *SRF*。该基因家族的所有成员均拥有称为 MADS 盒(MADS-box)的长约 56 个氨基酸的高度保守序列。MADS 盒的 N 末端与 DNA 结合, C 末端已经二聚体化,从 C 末端一直到 MADS 以外的区域均有可以与蛋白质实现结合的部位(Shore, Sharrocks, 1995)。MADS 结构域蛋白与 DNA 的结合位点是 CC(A/T)₆GG 序列,该序列又被称作 *CAR*G box。很多基因的启动子区含有 *CAR*G box 序列,这些基因很

可能均受 MADS-box 基因调控(Tilly, Allen, Jack, 1998)。

MADS-box 基因家族的起源尚不清楚。一些细菌的蛋白质(如 *Escherichia coli* 和 *Haemophilus influenzae* 的 *UspA* 应激反应蛋白家族的一些成员)含有较短的与部分 MADS 结构域同源的序列,似乎 MADS 型 DNA 结合区域的前体在细菌与真核生物分化之前(20~35 亿年前)就已形成。有趣的是, *UspA* 型蛋白序列的下游可预见有卷曲螺旋结构。由于植物 MADS 结构域蛋白的 K-结构域也被认为含有卷曲螺旋结构,因而 K-结构域也可能源自细菌(转引自 Theissen *et al.*, 2000)。根据全基因组序列分析结果,拟南芥、果蝇、线虫(*Caenorhabditis elegans*)及一种真菌(*Saccharomyces cerevisiae*)分别拥有 82、2、2、4 个 MADS-box 基因(Riechmann *et al.*, 2000)。既然 MADS-box 基因已发现于现存植物、动物及真菌中,完全可以认为这些真核生物的最新共同祖先(约 10 亿年前)已拥有真正的 MADS-box 基因。Theissen *et al.* (2000)认为 MADS-box 基因家族可分为三大支:其中两支为 ARG80-型(SRF-型)和 MEF2-型基因,可见于动物和菌类中;第三支为 MIKC 型基因(含 M-、I-、K-及 C-结构域),似乎仅分布于植物中。然而,Alvarez-Buylla *et al.* (2000)的研究表明:MADS-box 基因家族应分为两大支,即 Type I 和 Type II,源自真核生物祖先中的一次基因重复。Type I 包括 SRF-型基因及在植物中新发现的 AGL34-型基因;Type II 包括 MEF2-型基因及植物中非 AGL34-型基因的绝大部分。其他介于 Type I 和 Type II 之间的植物 MADS-box 基因可能是基因重组的产物。此外,仅植物 Type II 基因的部分成员含有 K 结构域,因而推测 K 结构域是在动物与植物 2 大支分化之后进化产生的。K 结构域采取的可能是 α 螺旋构造,称为 K 盒。K 盒中螺旋的不同侧面分别持有亲水性部分和疏水性部分,这一两亲性(amphipathic)对二聚体的形成及 K 盒中的螺旋与蛋白质的结合可能是必不可少的(Goto, Meyerowitz, 1994)。

由于植物 MADS-box 基因家族成员众多(如拟南芥基因组中含 82 个),功能的分化十分复杂,目前对该基因家族的认识仅来源于少数几种模式植物,尚难以总结出适于所有陆生植物的普遍规律,因而本文仅对陆生植物的各大支系的 MADS-box 基因的分布、进化及其与形态建成的关系分别加以介绍。

4.1 真蕨类植物中的 MADS-box 基因

尽管 MADS-box 基因的 cDNA 已从一种蕨类植物及一种石松类植物中分离出来(转引自 Theissen *et al.*, 2000),迄今发表的 MADS-box 基因序列涉及的最古老的(从系统树的最基部分出)植物类群为真蕨类。由于真蕨类中的水蕨(*Ceratopteris richardii*)具有较短的有性生活史(短于 120 天)及二倍体细胞型,适于遗传及发育分析,因而被看作蕨类植物研究中的模式植物(Chasan, 1992)。真蕨类的 MADS-box 基因也基本是从水蕨中分离得到的(Munster *et al.*, 1997; Hasebe *et al.*, 1998;),另外从瓶尔小草(*Ophioglossum pedunculatum*)中也分离出了一些 MADS-box 基因的 cDNA(Munster *et al.*, 1997)。

从水蕨中分离出的 cDNA 代表 15 个不同的基因位点(CRM1-CRM15),其中 CRM1-CRM10 均为单拷贝基因。从 MADS 结构域的序列及结构域的总体分布看,水蕨的 MADS-box 基因与典型的种子植物 MADS-box 基因间具有很高的序列相似性,然而系统发育分析发现水蕨的所有 MADS-box 基因均不与种子植物的 MADS-box 基因聚为一支,二者不呈明显的姐妹群关系。系统发育分析还表明:水蕨的 MADS-box 基因含 3 个支系,即 CRM1-型、CRM3-型及 CRM6-型基因,星散分布于种子植物 MADS-box 基因支系间。由于 CRM1-型与 CRM6-型基因在有些基因树上为姐妹群关系,保守的估计蕨类与种子植物的最近共同祖先(约 4 亿年前)至少拥有 2 类 MIKC-型 MADS-box 基因。现存蕨类与种子植物中含有的众多 MIKC-型 MADS-box 基因成员是由基因重复产生的,且很多基因重复事件在蕨类与种子植物中是独立发生的。尽管可以认为从水蕨中分离出的 MADS-

box 基因与其他植物的 MIKC - 型 MADS-box 基因(包括花同源异型基因)是同源的,但很显然二者间不是直系同源(orthologous)关系。分子钟估计 MIKC - 型 MADS-box 基因在距今 4.5 ~ 5 亿年前开始分化,它们的最近共同祖先似乎可追溯至奥陶纪,那时植物刚开始登陆(Purugganan, 1997)。迄今为止,研究者们尚未在蕨类植物中找到与种子植物花同源异型基因有直系关系的 MADS-box 基因拷贝。该结果或许与蕨类植物缺乏种子植物或有花植物的一些独特结构(如胚珠、心皮、雄蕊及花被等)有直接关系(Theissen *et al.*, 2000)。

关于蕨类植物 MADS-box 基因的功能问题,还缺乏相应的突变体及转基因植物的表达研究。目前的证据仅来源于 Northern 分析及原位杂交,结果表明:绝大部分 MADS-box 基因在蕨类植物生活史的孢子体及配子体阶段均表达,与种子植物中的情况形成鲜明对比。该表达式样暗示蕨类植物 MADS-box 基因在发育及细胞分化的调控方面具有更为广泛的功能,代表了 MIKC - 型 MADS-box 基因表达的一种祖先状态,被子植物花同源异型基因的高度器官特异性的表达是在 MIKC - 型 MADS-box 基因向花同源异型基因进化过程中获得的一种衍生状态(Theissen *et al.*, 2000)。有人猜测 MADS-box 基因的限制表达是调控该基因的其他基因的进化造成的。

4.2 裸子植物中的 MADS-box 基因

现存裸子植物包括 4 个群,即苏铁类(cycads)、银杏类(ginkgo)、松柏类(conifers)及买麻藤类(gnetophytes)。由于松柏类植物具有十分重要的生态及经济价值,买麻藤类植物具有重要的系统位置(传统上常被看作被子植物的姐妹群),因而裸子植物的 MADS-box 基因研究主要集中于这两类植物中。迄今为止,在苏铁类及银杏中仅分离出少数几个 MADS-box 基因的 cDNA(引自 Theissen *et al.*, 2000)。

4.2.1 松柏类植物

松柏类植物的 MADS-box 基因的 cDNA 已在云杉属及松属植物(*Picea abies*, *Picea mariana*, *Pinus radiata*, *Pinus resinosa*)中报道过(Liu, Podila, 1997; Mouradov *et al.*, 1999; Rutledge *et al.*, 1998; Sundstrom *et al.*, 1999)。基因表达研究发现松柏类植物的 MADS-box 基因在雌、雄球花中均转录,有些还在营养器官中表达。系统发育分析表明:目前从这些类群中获得的所有具有完整 cDNA 的 MADS-box 基因均与被子植物的 MADS-box 基因有直系同源关系,分别与被子植物的 AG - 、AGL2 - 、AGL6 - 、DEF/GLO 及 TM3 - 型基因聚为一支。然而, Rutledge 等(1998)利用 MADS-box 基因的简并引物对 1 个长 61 bp 片段的 PCR 克隆分析表明: *Picea mariana* 中的 MADS-box 基因数超过 27 个,其中有几个基因尚未发现与被子植物的 MADS-box 基因有直系同源关系。

松柏类植物的 AG - 型 MADS-box 基因(如 *Picea abies* 中的 DAL2 及 *Picea mariana* 中的 SAG1 不仅与被子植物的 AGAMOUS 基因具有相似的结构,而且 DAL2/SAG1 在拟南芥中的表达结果说明:与被子植物花发育模型 ABC(D)中的 D 功能(控制胚珠)相比, DAL2/SAG1 的功能与 C 功能更为相近(Rutledge *et al.*, 1998; Tandre *et al.*, 1998),而 C 功能在被子植物中是与雄蕊及心皮相关的。由于胚珠是种子植物共有的结构,比心皮起源早,松柏类植物中 DAL2/SAG1 的“C”功能可能代表了 AG - 型 MADS-box 基因功能的一种祖先状态,是 C 功能与 D 功能的共同祖先,用于区分生殖器官(基因表达)与营养器官(基因不表达)(Theissen *et al.*, 2000)。迄今为止,在研究过的任何 1 种裸子植物中仅分离出 1 种 AG - 型基因,且这些基因在 MADS 基因树上均位于被子植物 C 与 D 功能基因的基部,更进一步说明了这一问题。DAL2/SAG1 在被子植物的共同祖先中可能发生了 1 次基因重复,分别进化为现今的 C 与 D 功能。

4.2.2 买麻藤类植物

买麻藤类植物是一群充满神秘色彩的植物,仅包括 3 个属,即买麻藤属(*Gnetum*)、麻黄属

(*Ephedra*)及百岁兰属(*Welwitschia*)。绝大部分基于形态性状的系统发育分析支持裸子植物是被子植物的姐妹群这一观点,甚至基于其类似花的繁殖结构(假花被或外珠被似被子植物的花被),将裸子植物与被子植物组成一支,即“生花植物”(anthophytes)。然而,近年来基于分子性状进行的系统发育分析不支持“生花植物”假说,反而认为裸子植物为一单系群(Chaw *et al.*, 1997)。

Winter *et al.* (1999)研究了灌状买麻藤(*Gnetum gnemon*)的 MADS-box 基因,报道了 13 个不同的单拷贝基因的 cDNA 序列(*GGM1* - *GGM13*)。这些基因中的绝大部分在雌、雄球花中均表达,但在叶中不表达,说明其与被子植物的花部分生组织及器官属性基因具有相似的功能。系统发育分析表明:其中 7 个基因(*GGM4*, *GGM5*, *GGM6*, *GGM7*, *GGM8*, *GGM10*, *GGM13*)属于新基因亚群,这些基因亚群在双子叶植物中尚未见报道,但一个与 *GGM13* 高度相似的序列已在单子叶植物发现(转引自 Theissen *et al.*, 2000)。另外 6 个基因(*GGM1*, *GGM2*, *GGM3*, *GGM9*, *GGM11*, *GGM12*)分别与被子植物中的一些 MADS-box 基因亚群(如 *STMADS11*, *TM3* - , *DEF/GLO* - , *AG* - , *AGL6* - 型基因)很好地聚在一起,说明它们之间可能具直系同源关系。此外,当某一基因亚群的成员能在被子植物、买麻藤及松柏类植物中同时得到时,即在 *AG* - 、*AGL6* - 、*TM3* - 及 *DEF/GLO* - 基因亚群中,买麻藤的基因总与松柏类植物的基因(而不是被子植物的基因)聚为一个亚支。该结果从分子证据方面说明买麻藤类植物与松柏类植物有更近的亲缘关系,不仅不支持“生花植物”假说,而且对 1 个世纪以来人们广泛接受的一些形态性状的理解提出质疑。买麻藤类植物与松柏类植物的姐妹群关系还说明前者拥有的一些类似被子植物的特征(如花状的繁殖构造,简化的雌配子体,具双珠被的胚珠,双子叶种子,次生木质部中的导管,网状叶脉,双受精等)是同塑进化(homoplasy)造成的。Becker *et al.* (2000)克隆并测定了灌状买麻藤的 19 个 MADS-box 基因的 cDNA 序列(*GGM1* - *GGM19*),除 *GGM18* 可能代表不同的等位基因或某一基因的近期重复拷贝外,另外 18 个基因均为单拷贝基因。该研究的其他结果与 Winter *et al.* (1999)的研究结果相吻合。

GGM2 是裸子植物中 *DEF/GLO* - 型基因(B 功能基因)的首次报道,但该类基因已发现于 *Picea abies* 及 *Picea mariana* 中(Mouradov *et al.*, 1999; Sundstrom *et al.*, 1999)。虽然目前的系统发育分析尚不能清楚地说明 *GGM2* 与 *DEF* - 型和 *GLO* - 型基因中的哪一个更近及 *GGM2* 是否为二者的共同祖先等问题,但对 *GGM2* 的外显子 - 内含子结构分析支持如下观点:现存裸子植物及被子植物的最近共同祖先中仅含 1 个 *DEF/GLO* - 型基因,被子植物与裸子植物分化后, *DEF/GLO* - 型基因在被子植物中发生了 1 次基因重复,分别进化为现今的 *DEF* - 型和 *GLO* - 型基因。类似于松柏类植物中的 *AG* - 型基因 *DAL2/SAG1* 的表达,买麻藤中的 *AG* - 型基因 *GGM3* 在雌、雄球花中均表达,但在叶中不表达。特别是 *GGM3* (C 及 D 功能基因)在灌状买麻藤的假花被(珠被)中表达,也说明买麻藤类植物的假花被与被子植物的花被(受 A 及 B 功能基因调控)是不同源的(Winter *et al.*, 1999)。 *TM3* - 型基因 *GGM1* 的表达更为广泛,即在雌、雄球花及叶中均表达。然而, *DEF/GLO* - 型基因 *GGM2* 仅在雄球花中表达,可能代表了该类基因成员的一个祖先状态的功能,用于区分雌(不表达)、雄(表达)生殖结构。

总之,现存裸子植物与被子植物的最近共同祖先(约 3 亿年前)中至少已拥有 7 个不同的 MADS-box 基因,即 *AG* - 、*AGL2* - 、*AGL6* - 、*DEF/GLO* - 、*GGM13*、*STMADS11* 及 *TM3* - 型基因。由于 B 功能基因及 C/D 功能基因的祖先状态均已出现于裸子植物中,现存种子植物的最近共同祖先中可能已具备花发育的 ABC(D)模型的前身,并表现为 BC/D 系统。目前在被子植物中发现的一些 MADS-box 基因亚群在蕨类植物与种子植物分化之后至现存种子植物辐射分化之前的一段时间中(3 ~ 4 亿年间)就已形成(Theissen *et al.*, 2000)。

4.3 被子植物中的 MADS-box 基因

被子植物是绝大多数陆生生态系统中植被的主导成分,约含 25~30 万种。该群植物的起源与分化问题仍存在极大的争论,特别是早期辐射分化出的一些类群间的系统发育关系至今未得到很好的分辨(Barkman *et al.*, 2000),这些类群被称作被子植物的基部类群(basal angiosperms)。在被子植物基部类群中镶嵌着 2 大支,即单子叶植物和真双子叶植物(eudicots)。

4.3.1 被子植物基部类群中的 MADS-box 基因

被子植物基部类群对理解花的起源至关重要,该群植物的花部结构式样繁多,花萼、花瓣、雄蕊及雌蕊的数目及排列式样的变异十分复杂。有些类群的花两性,大而且由多部分组成;有些类群的花单性,小而简单。由于被子植物与裸子植物间存在很大的形态间断,因而给被子植物花的祖先状态的判断带来了极大困难。第一朵被子植物花是像玉兰(*Magnolia*)的花一样具很多精美的花被片?还是如草珊瑚(*Sarcandra glabra*)的花一样仅具一枚苞片、一枚雄蕊及一枚心皮?在裸子植物中可能就已存在的控制繁殖器官特异性的 BC/D 系统如何进化成了被子植物的 ABCD 模式?

最传统的花发育模型假定最原始的被子植物花已经拥有花被片。其中 1 个假说认为祖先状态的花被仅为 1 轮花瓣,A-与 B-功能基因同时表达。依据这一假说,仅由 A-功能基因表达的萼片轮是后来从外部添加的,用于保护花芽免遭捕食。另 1 个较早的 ABCD 模型认为:原始的花拥有 1 至多轮由 A-功能基因控制的萼片状花被,花瓣与花萼的分化是通过 B-功能基因的功能向内轮花被的延伸进化而来。但若基于 MADS-box 基因的谱系推断,最原始的花可能不具花被,仅由 1 至多个雄蕊和心皮(包括胚珠)组成(如 *Sarcandra* 的花)。这种简单的花可将裸子植物与被子植物繁殖结构间巨大的间断联系起来。上述模型引发了其他几个问题:萼片与花瓣是如何产生的? A-功能基因从何而来?

众所周知,不育的花被器官在被子植物中是多次独立起源的,类似的器官(如花瓣)未必同源。在木兰目、胡椒目、马兜铃目等被子植物的最基部类群中,花瓣由萼片或围绕花的不育器官演化而来,被称作苞片瓣(bracteopetals);在睡莲目等被子植物基部类群中,花瓣由雄蕊演化而来,因而被称作雄蕊瓣(andropetals)。Kramer *et al.* (1998)从被子植物基部类群(木兰科的含笑 *Michelia figo*、鹅掌楸 *Liriodendron tulipifera*, 胡椒科的草胡椒 *Peperomia hirta*、胡椒 *Piper magnificum*)及高、低等真双子叶植物中分别克隆了 DEF-及 GLO-型基因的 cDNA,以探讨这些基因在花瓣及雄蕊进化中所起的作用。结果表明:DEF/GLO-型基因在被子植物的祖先中发生了一次基因重复,产生了 DEF-及 GLO-型基因 2 个支系,并形成了各自特异的基本序列(motif),进而这两类基因在各自的支系中频繁发生基因重复。在拟南芥中,两个 A-功能基因同样行使花分生组织属性基因的功能,说明在有些情况下 A-功能由确定花分生组织属性这一功能演化而来。此外,AGL15-型基因以前仅在十字花科植物中有报道,该基因在处于发育状态的胚中表达,说明其可能参与胚胎发生的调控。该基因现已发现于木兰属植物中(Theissen *et al.*, 2000),说明其在被子植物的基部类群中就已存在。

总之,虽然我们尚不清楚“第一朵花”的面目,但可以肯定现存被子植物的最近共同祖先中至少含 9 类不同的 MADS-box 基因,即 AG-、AGL2-、AGL6-、GGM13、STMADS11、TM3-、DEF-、GLO-及 AGL15-型基因。其中,后三者是在被子植物中分化出来的(Theissen *et al.*, 2000)。

4.3.2 单子叶植物中的 MADS-box 基因

单子叶植物的不同类群(如禾本科与百合科)具有完全不同的花及花序,这种繁殖器官的结构多样性引起了植物学家的广泛兴趣。此外,很多单子叶植物的花、果实及种子具有重要经济价值,有些类群的栽培历史与人类文明息息相关。上述原因使 MADS-box 基因在很多单子叶植物中得到了较为深入的研究,如玉米、水稻、小麦、高粱、百合(*Lilium regale*)、郁金香(*Tulipa gesneriana*)、天门

冬(*Asparagus officinalis*)等。虽然单子叶植物中的第一个 MADS-box 基因的 cDNA 是从兰花中分离出来的(Lu *et al.*, 1993),但该类植物中的绝大部分 MADS-box 基因研究均集中于玉米和水稻中。这 2 个物种不仅养育了全世界人口的一大部分,而且是植物遗传学及分子生物学的模式材料。

Schmidt & Ambrose(1998)从玉米中分离出 *SILKY1* 基因,发现该基因突变体的表型与真双子叶植物中 B-功能基因突变体的表型十分相似。根据序列分析结果,*SILKY1* 基因可能与 B 功能基因 *DEF* 直系同源。该研究还表明玉米的浆片(lodicule)与内稃(palea)分别与真双子叶植物的花瓣和花萼同源。系统发育分析发现:玉米的 C-功能基因 *ZAG1/ZMM2* 与拟南芥中的 *AG*-型基因直系同源。*ZAG1/ZMM2* 基因不仅限定雄蕊与心皮属性的表达(C-功能),而且对花分生组织的分化次序起调控作用。基因表达研究推测 *ZAG1* 对心皮的发育更重要,而 *ZMM2* 对雄蕊的发育更重要(Mena *et al.*, 1996; Schmidt, Ambrose, 1998)。至于该推断是否成立,有待于 *ZMM2* 突变体及 *ZAG1/ZMM2* 双突变体的研究。单子叶植物的某些 MADS-box 基因是否如拟南芥的 *SQUA*-型基因 *AP1* 一样表达 A-功能目前尚不清楚,但 *SQUA*-型基因已发现于玉米、高粱及百合等植物中(Theissen *et al.*, 2000),说明单子叶植物与真双子叶植物的最近共同祖先已拥有 *SQUA*-型基因。迄今为止,从玉米中已克隆到 30 多个不同的 MADS-box 基因的 cDNA(Mena *et al.*, 1995; Theissen *et al.*, 2000),其中 *AGL17*-型基因在单子叶植物中为首次报道。

虽然一些数据表明 B 与 C 功能基因在单子叶植物与真双子叶植物中的表达式样是十分相似的,但 B 功能基因在禾本科控制浆片(lodicule),而不是控制花中第二轮的花瓣。在百合科及其近缘类群中,B 功能基因不仅在花的第二及第三轮结构中表达,而且很可能也在第一轮结构中表达。因此,百合科及其近缘类群仅含简单的花被,该花被由 2 轮被称作瓣片的花瓣器官组成。除在现存被子植物的最近共同祖先中就已经存在的 9 个 MADS-box 基因外,单子叶植物与真双子叶植物的最近共同祖先(约 2 亿年前)中还已拥有 *AGL17*-及 *SQUA*-型基因,即共拥有 11 个 MADS-box 基因(Theissen *et al.*, 2000)。

4.3.3 真双子叶植物中的 MADS-box 基因

真双子叶植物是一群产生 3 沟或 3 沟-衍生花粉的植物,其花被由典型的 2 轮结构组成,即外轮的萼片与内轮的花瓣。控制花器官分化的 ABCD 系统在真双子叶植物中是高度保守的,只不过广义的 A-功能在不同的种中可能由不同的基因控制,或者在有些种中不存在。关于该群植物的 MADS-box 基因的结构、功能与系统发育问题已有很多综述(Riechmann, Meyerowitz, 1997; Theissen *et al.*, 1996),本文仅介绍一些新进展。

根据 ABCD 模型,B-功能基因(*DEF*-及 *GLO*-型基因)控制花瓣和雄蕊属性,且 BCD 部分的功能相对而言是很保守的。然而,在低等真双子叶植物中,花同源异型基因的时空表达式样是极其多样的。Kramer & Irish(1999)研究了 5 种低等真双子叶植物(毛茛科的 *Ranunculus bulbosus* 和 *R. ficaria*、紫堇科的 *Dicentra eximia*、罂粟科的 *Papaver nudicaule* 及 *Sanguinaria canadensis*)的 *AP3*-及 *PI*-型基因(*DEF*-及 *GLO*-型基因的直系同源拷贝)的表达式样后发现:其中一些物种的 *DEF*-及 *GLO*-型基因的表达式样与该类基因在高等真双子叶植物中的表达式样有很大差异。例如,*DEF*-及 *GLO*-型基因的转录体或蛋白在 *D. eximia* 与 *P. nudicaule* 的幼小的花瓣原基中累积,但在原基发育的晚期降低并仅局限于花瓣的顶端或边缘,甚至完全消失。该发现可能反映了“自雄蕊演化而来的花瓣”是多次独立发生的。

为更好地阐明 ABCD 基因在花发育中的作用,必须找到这些基因上游的调节基因及其靶基因。该方面的研究近年来取得了重要突破。Goodrich *et al.*(1997)从拟南芥中克隆到 *CURLY LEAF* (*CLF*)基因,该基因功能缺陷导致叶片卷曲,这也是 C-功能基因 *AGAMOUS* 异位表达造成的。在

clf 突变体中, *AG* 在叶及植物体的其他部分异位表达。令人惊奇的是 CLF 蛋白与果蝇的 Polycomb 群基因 *E(z)* 的蛋白产物具有很高的序列相似性, 说明两种蛋白具有共同祖先, 植物也拥有 Polycomb 群基因的功能。Sablowski & Meyerowitz (1998) 发现的 *NAP* 基因是第一个有实验证据的花同源异型基因的靶基因, *NAP* 基因的表达式样及其错误表达形成的表型说明该基因在雄蕊及花瓣中的细胞分裂生长与细胞扩展间起转换作用。

通常情况下, 在具两性花发育潜力的花的个体发生中, 位于特定轮的雄性器官或雌性器官的发育受到抑制便导致单性花的产生。然而, 现在一般认为: 在花的发育过程中, 器官败育或被抑制与 MADS-box 基因的表达是由不同机制独立控制的。例如, 推测的 B- 及 C- 功能花同源异型基因同时在雌雄异株的蝇子草 (*Silene latifolia*) 的同等位置的雄花(雌蕊不分化)及雌花(雄蕊原基在发育过程中退化)中表达。Pelaz *et al.* (2000) 在拟南芥的研究中发现, B 和 C 花器官属性基因的功能需要 3 个 *SEPALLATA* 基因维持。这 3 个基因间的关系很近, 但功能冗余, 3 基因突变体花的各轮均发育为萼片。此外, 通过拟南芥突变体分析, 现已有确凿的证据表明 MADS-box 基因的功能不仅仅局限于花发育过程, 而且涉及根、叶等器官的发育过程 (Zhang, Forde, 1998)。

5 结 语

如前所述, 植物和动物可能是在单细胞阶段分开之后各自实现多细胞化的, 二者的形态建成体系 (morphogenesis system) 极有可能存在差别, 这对于全面理解整个生物界的形态建成无疑是一件意义深远的事情。在过去的 10 年中, MADS-box 基因家族的研究虽已取得一系列重要成果, 但绝大部分研究仅集中在少数几个模式植物中, 特别是基因表达及其功能的研究仅在种子植物中有所开展。况且作为模式植物的水稻和拟南芥的分化可能仅仅是 1.4 亿年前的事情, 不足以用来说明拥有 15 亿年进化史的植物的发生与进化历程。因而, 要最终阐明 MADS-box 基因家族的起源、进化及其与植物形态建成的关系, 尚有大量工作有待开展。

从陆生植物进化的关键阶段考虑, 目前我们对藓类植物的 MADS-box 基因知之甚少, 对藻类及苔类植物的 MADS-box 基因一无所知。近年来的研究表明: 地钱(苔类)为最早的陆生植物 (Qiu *et al.*, 1998), 轮藻(绿藻门)为所有陆生植物的姐妹群 (Kenrick & Crane, 1997)。为了探明植物形态建成的普遍性和多样性, 有必要起用在更为古老的时期就已经发生了分化、形态上又具有更大差异的藻类、苔类及藓类植物进行相关研究。

为探讨 MADS-box 基因家族的进化规律, 应选用系统发育关系较近的一些类群同时进行研究; 为阐明 MADS-box 基因的功能, 应更多地利用转基因方法, 对外源基因的表达式样进行研究。当然, 对表达式样不同的直系同源基因的启动子进行比较分析也是很有意义的。

参考文献

- Alvarez-Buylla E R, Pelaz S, Liljegren S J, *et al.* An ancestral MADS-box gene duplication occurred before the divergence of plants and animals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 5328 ~ 5333
- Angenent G C, Colombo L. Molecular control of ovule development. *Trends Plant Sci.*, 1996, 1: 228 ~ 232
- Barkman T J, Chenery G, McNeal J R, *et al.* Independent and combined analyses of plant phylogeny. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 13166 ~ 13171
- Baum D A. The evolution of plant development. *Curr Opin Pl Biol*, 1998, 1: 79 ~ 86