

研究生创新教育系列丛书

植物发育生物学

黄学林 编著



科学出版社

内 容 简 介

植物发育包括完成生命周期的个体发育和体现进化的系统发育,后者在最近十多年来已形成了一个新的研究领域“进化发育生物学”(evolutionary developmental biology)。

本书将侧重被子植物个体发育及其调控机制的内容,并根据植物的个体发育既是一个连续不断的生命周期,又可分成若干相对较独立的阶段的特点而划分章节,将全书分为8章:第1章为绪论,概要介绍被子植物发育过程及有关植物发育生物学的重要概念和学术理论;第2章介绍被子植物胚胎发生和种子的形成,包括体细胞胚胎发生相关内容;第3章介绍苗端分生组织及其侧生器官的发育;第4章介绍根(包括侧根、根毛)的发育及其调控;第5章介绍被子植物的性别决定;第6章介绍配子发生和配子体的发育;第7章介绍花的发育及其调控;第8章介绍果实的发育及其调控。

发育生物学与遗传学及分子生物学的关系最密切,本书在阐述植物发育的过程及其分子遗传调控机制的基础上,贯通形态结构、生理和胚胎学的内容,在各章、节中都着重收集和介绍有代表性的相关突变体,希望通过这种写法将枯燥的基因符号与植物发育的表型联系起来,并以此为切入点论述植物发育的分子遗传调控及其相关的基因功能,介绍相关新进展。

在资料收集上,本书兼顾单子叶、双子叶植物发育及其调控的特点,并尽可能地进行比较性的介绍。

本书可供生物科学和农林及医药相关专业的高年级本科生、研究生、教师和科技工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

植物发育生物学 / 黄学林编著. —北京:科学出版社,2012

(研究生创新教育系列丛书)

ISBN 978-7-03-034141-9

I. ①植… II. ①黄… III. ①植物-发育生物学-研究生-教材 IV. ①Q945.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 079275 号

责任编辑:罗 静 王 静 贺霁青 / 责任校对:钟 洋

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:陈 敬

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

骏 杰 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012 年 5 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2012 年 5 月第一次印刷 印张:23 1/2 插页:6

字数:544 000

定价:78.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

本书写作的初衷是收集和整理植物发育生物学及其相关领域的基本资料、研究进展,使之成为可供本领域教学和科学研究参考的一本基础理论读物。

植物发育生物学最终要回答的一个核心问题是植物如何由一个单细胞(受精卵或体细胞)发育为复杂的多细胞个体;植物发育生物学不但要在各个层次上描述这些变化的过程,也要探明它们的各种调控机制。植物的种子、果实及块茎、块根等多种变异器官乃至其营养体是人类食品、药物和观赏材料最主要的来源,可以说植物是人类赖以生存的最基本的自然资源。植物发育生物学的研究成果不但在理论上使我们对植物的发生、发展及其与环境相互作用的机理有更深层次的认识,也为我们如何有效控制植物生长发育、提高产量和品质提供了新思路 and 新技术。因此,植物发育生物学的教学及其研究水平将深刻影响本学科乃至相关行业和产业的持续发展。

与动物发育生物学相比,植物发育生物学的研究起步较晚。有相当一段时间,在国内外出版的有关发育生物学著作和教学参考书中,都以介绍动物发育生物学的基础知识和研究成果为主,有关归类、整理植物发育生物学的基本科学资料及其研究进展的著作比较缺乏。但近 10 年来,随着拟南芥和水稻等越来越多的植物基因组测序、分子遗传学、分子生物学和生物信息学的理论及其实验技术的进展,植物发育生物学的研究也得到了迅速发展,植物发育生物学已成为生命科学的前沿学科之一,它的内容几乎渗透到植物科学(plant science)所有的相关学科或分支领域。鉴于工作和对自身提高的需要,写作了此书,虽然深知面对资料和信息如此猛增、学科和分支领域的交叉如此纵深复杂、研究进展如此“日新月异”的学科发展势态,要写好此书并非易事,但教与学相长的促进,使我坚持完成了本书的写作。

本书侧重于被子植物个体发育及其调控机制的内容。选择这一内容是因为全球现有植物种类中约有一半是被子植物,它们是植物界中最进化和最繁茂的类群,与人类的生存息息相关,对它们的研究也反映着植物发育生物学的研究热点,在相关的研究领域也取得了许多引人瞩目的进展,如小 RNA 和微小 RNA 对植物各个阶段发育的作用、花器官发育的“ABCDE”基因控制模式,以及最近所发现的“FT”蛋白即是研究者苦苦寻觅了近 80 年的“开花素”新角色等研究成果。

本书共分成 8 章,希望在内容和结构上能反映出一个比较完整的体系。在第 1 章的绪论中,概要地介绍被子植物发育过程及有关植物发育生物学的重要概念和学术理论,读者从中可获得对植物发育生物学一般性的了解。第 2 章介绍被子植物胚胎发生和种子的形成,包括体细胞胚胎发生内容,写入这一内容是因为体细胞胚胎发生重现了合子胚形态发生的过程,是植物细胞表达全能性再生植株的最常见的一种方式;同时,体细胞胚胎发生在经济作物无性快速繁殖等方面已发挥着重要的作用,也是基因转化、基因功能和生物反应器等研究的理想体系。从第 3 章开始介绍胚胎发生后植物发育的基本内容,包括苗

端分生组织及其侧生器官的发育(第3章)、根(包括侧根、根毛)的发育及其调控(第4章)、被子植物的性别决定(第5章)、配子发生和配子体的发育(第6章)、花的发育及其调控(第7章)和果实的发育及其调控(第8章)。

本书的完成得益于许多已发表的学术论文和一些已出版的著作,其中绝大部分被引用的论文和图表都已在相关章节的参考文献中列出,在此,对这些论文的作者及有关杂志和出版部门表示衷心的感谢。

我的妻子(也是我的同事)李筱菊高级工程师是本书的第一个读者,从她本人的业务角度对本书结构体系和文字描述提出了许多很好的建议,特别是在她的精心操持下,使我有了一个温馨的家庭,没有她的支持、帮助和关爱,我难以完成本书的写作。

在本书的完成过程中我要感谢研究组的同事黄霞副教授和陈云凤博士,在她们的努力工作和密切配合下,使实验室的教学和科研工作能有效地运转,使我有更多的时间从事本书的构思和写作。我也要感谢在我实验室从事过学习和工作过的博士后、研究生和本科生,是他(她)们的到来,使实验室充满了青春气息和活力,是他(她)们在完成学位论文和研究课题的过程累积了相关的资料;是他(她)们坚忍不拔的探索和求学精神使我感动,为了他(她)们也是我写作本书的动力之一。同时,我要感谢在国外工作的亲朋好友,是他们及时找来我需要的资料。学院有关领导对本书的出版给予了大力的支持,在此一并感谢。

最后我要衷心感谢许智宏院士和罗达教授,他们在百忙中审阅了本书的相关章节,提出了中肯而宝贵的建议。

感谢中国科学院科学出版基金对本书出版的资助。

由于作者的水平有限,遗漏和不妥之处恐所难免,诚望同行和读者们批评指正。

黄学林

2011年8月于中山大学

目 录

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 被子植物发育过程概要	1
1.2 植物发育生物学及其研究的主要范围	2
1.3 模式植物——拟南芥.....	19
1.4 突变体及其基因命名符号的使用说明.....	20
参考文献	21
推荐参考读物	22
第 2 章 被子植物胚胎发生和种子的形成	24
2.1 胚胎、胚乳与种子	24
2.2 胚胎发生.....	24
2.3 胚乳的发育.....	35
2.4 体细胞胚胎发生.....	45
参考文献	55
第 3 章 苗端分生组织及其侧生器官的发育	60
3.1 苗端分生组织.....	60
3.2 侧生器官——叶的发育.....	72
3.3 侧生器官——侧枝的发育	101
参考文献.....	114
第 4 章 根的发育及其调控	120
4.1 初生根的形态结构及其功能	120
4.2 初生根的发育	124
4.3 初生根向地性的调控	138
4.4 侧根的发育及其调控	141
4.5 根毛的发育	151
参考文献.....	160
第 5 章 被子植物的性别决定	163
5.1 被子植物的性别表现	163
5.2 被子植物的性染色体	165
5.3 被子植物的性别决定机制	181
参考文献.....	213
第 6 章 配子发生和配子体的发育	220
6.1 小孢子发生及雄配子体的发育	220

6.2 雌配子体或胚囊的发育	256
6.3 双受精作用:雌、雄配子体之间的信号传导及其接受	265
6.4 被子植物配子体中的小 RNA 活性及其功能	267
参考文献.....	275
第7章 花的发育及其调控	287
7.1 幼龄期向成年期的转变	287
7.2 成花转变	295
7.3 开花时间的遗传调控	304
7.4 花器官的发育	315
参考文献.....	325
第8章 果实的发育及其调控	328
8.1 肉质果的发育	328
8.2 果实的后熟及其调控	336
8.3 干果的发育	350
参考文献.....	354
中英文名词索引	357
有关突变体索引	362
彩图	

第 1 章 绪 论

1.1 被子植物发育过程概要

被子植物发育包括完成生命周期的个体发育和体现进化的系统发育。被子植物遵循其生命周期(life cycle)完成个体发育,经历胚胎发生、种子萌发、营养生长、生殖生长和衰老死亡等发育阶段。尽管被子植物的个体发育是一个连续不断的过程,但根据其发育特点,一般可简单地将被子植物个体发育分为胚胎发生(embryogenesis)和胚后发育(post-embryonic development)。以拟南芥为例(图 1-1),胚胎发生始于双受精(double

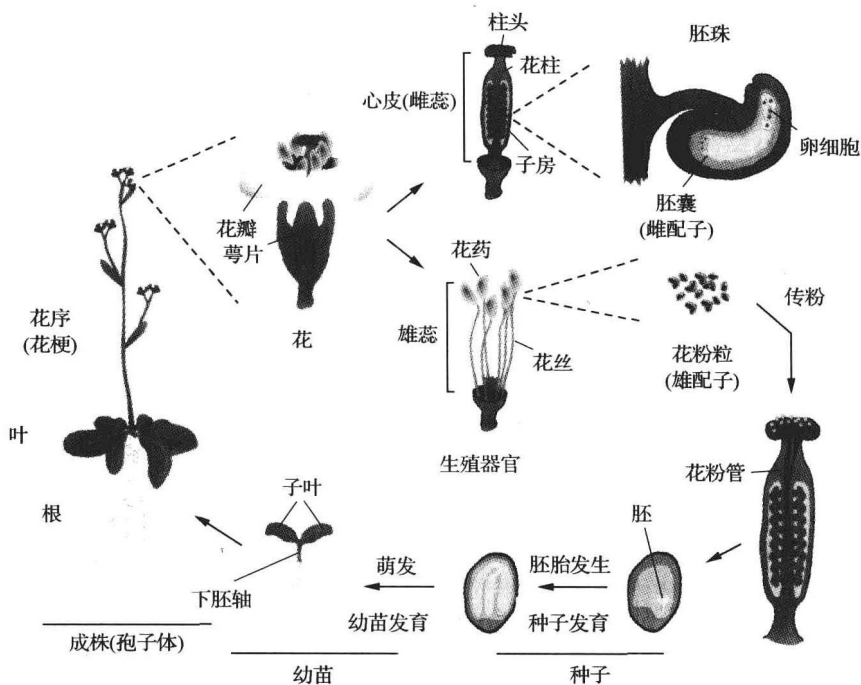


图 1-1 拟南芥生命周期各个阶段示意图(Howell, 1998)

左: 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)已发育出花序(花梗),基部长出一轮莲座状叶(rosette leaf),当花梗分枝开花时,在花梗上发育出的叶称为茎生叶(cauline leaf)。拟南芥的花具有花萼、花瓣、雄蕊和心皮或雌蕊 4 轮花器官,去掉花萼和花瓣可见雌性生殖器官(心皮或雌蕊)和雄性生殖器官(雄蕊)。两枚心皮构成了位于中央的由柱头、花柱和子房组成的雌蕊。子房具有两个子房室,各有一排胚珠;胚珠内含胚囊(雌配子体),卵细胞(egg cell)着生于胚囊内(图的右上方)。雄性生殖器官由产生花粉粒(雄配子体)的花药和支持花药的花丝组成,授粉时,花药开裂,花粉粒落入充满着乳状突出物的柱头中,花粉粒萌发后,花粉管生长穿过柱头、花丝和子房壁,由胚珠一侧进入胚囊与其中的卵子和中央细胞融合而完成受精过程。受精卵发育成胚,由胚、胚外组织和母体组织形成种子,种子萌发后形成带有子叶、下胚轴和根的幼苗,进而发育成成年植株。从播种到获得种子约需 6 周

fertilization);此时,雄配子体(花粉粒)产生两个精细胞和一个营养细胞,当花粉粒黏于柱头上,花粉粒与柱头表面经过一定的信号相互识别后,花粉萌发,长出的花粉管沿着花柱向下生长进入胚珠,同时两个精子细胞顺着花粉管进入胚囊(embryo sac)(雌配子体),其中的一个精子细胞与卵子融合形成合子,另一个精子细胞与二倍体中央细胞融合形成三倍体的胚乳细胞。这一双受精作用完成后便开始了原胚(proembryo)的发育,此时,胚乳细胞为生长中的胚提供营养,合子发生一系列定型(commitment)的细胞分裂,形成原胚,原胚通过胚柄与胚珠相连。原胚经进一步生长与细胞分裂便形成具顶-基轴性和径向轴性结构的成熟胚结构(见第2章图2-1),结合种皮(一般由珠被发育而成)和胚乳的发育形成种子,此后即开始胚胎后的发育。种子可在适宜的环境条件下萌发(germination),胚芽发育成苗端,长出土表,而胚根(radicle root)产生根系扎于土中,逐步发育成的幼苗分别通过苗端和根端这两个顶端分生组织的细胞分裂、分化和生长,发育出成株的所有器官、组织和结构。因此,被子植物的个体发育可以说是从受精开始,通过细胞分裂与增大、分化和相应细胞的程序死亡(programmed cell death, PCD),经历胚胎发生、胚胎后的器官形成、开花、果实发育和种子形成等预编程的复杂过程(图1-1),也是内在遗传机制同环境条件相互作用的结果。

1.2 植物发育生物学及其研究的主要范围

植物发育生物学(plant developmental biology)是用现代生物学方法研究植物个体发育与系统发育的学科,后者在最近的十多年来已成了一个新的研究领域“进化发育生物学”(evolutionary developmental biology)。因此一般来说,植物发育生物学所关注的是植物个体生长、分化和不同器官的发育及其遗传调控机制。可以预见,随着有关植物基因组破译的完成,植物生命科学研究焦点将是揭示植物如何由一个单细胞(受精卵和植物体细胞)发育为复杂的多细胞植物个体的过程及相关的机制。植物发育生物学已成为生命科学几大前沿学科之一。

有相当一段时间,植物发育生物学的研究远落后于动物发育生物学的研究。植物发育生物学的许多研究思路和研究方法,乃至重要的学术概念都借鉴于动物发育生物学,但近10多年来,特别是自从完成了模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的全基因组序列测序后,植物发育生物学的研究得到迅速发展,这一点可以从研究模式动物果蝇(*Drosophila melanogaster*)和模式植物拟南芥所发表的相关论文数目的比较中看出(图1-2)。截至2005年,发表与拟南芥发育有关的论文由1993年的723篇猛增至4137篇(论文数增加约5.7倍),已接近果蝇方面所发表的论文4594篇(论文数增加约1.7倍)。因此,原先主要发表动物发育生物学有关文章的刊物《国际发育生物学杂志》(*The International Journal of Developmental Biology*),自2005年也开始为植物发育生物学出版专集,邀请有关专家撰写综述,介绍植物发育生物学的新进展和新成就,有一些研究成果也与动物发育生物学密切相关,如微小RNA(microRNA)对发育的调节、基因表达的表现遗传控制(epigenetic control)、RNA加工和远距离信号传导等(Micol and Blázquez, 2005)。

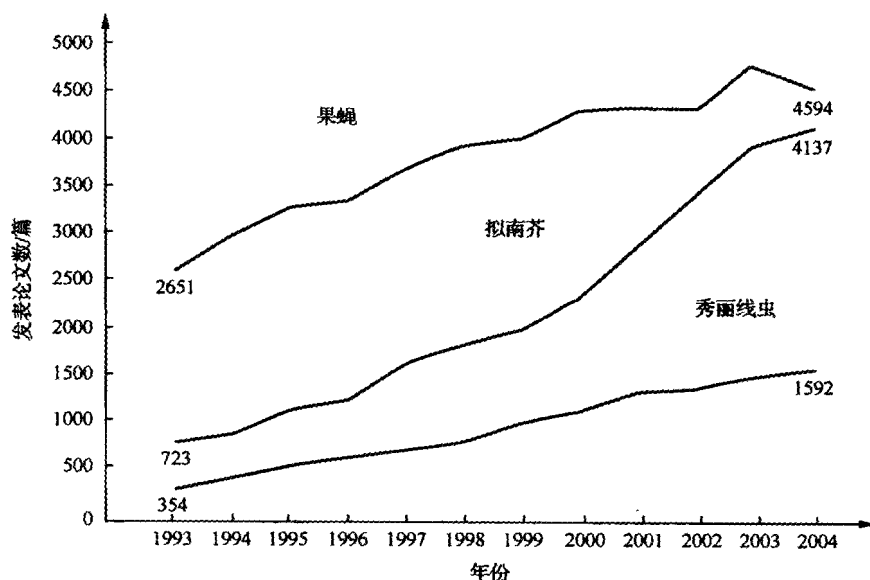


图 1-2 每年发表有关拟南芥、果蝇和秀丽线虫的论文数的比较

所选择的论文是在标题、摘要和关键词中含有“拟南芥、果蝇和秀丽线虫”一词的论文,1993~2004 年对于拟南芥的研究得到了很快的发展(Micol and Blázquez, 2005)

植物发育生物学研究范围至少应包括描述植物发育的过程,揭示发育过程中所发生的生化反应、细胞与组织和器官体系的结构建成的规律及其相互作用的分子遗传机制。植物发育生物学还应揭示植物是如何获得其特有功能的。以下介绍植物发育生物学中有关重要概念和所要研究的基本科学问题。

1.2.1 生长

发育包含细胞的生长和细胞增殖。细胞数目的增加可使细胞功能专门化和机体结构的图式形成。机体是靠生长(growth)而不断增大的,生长是细胞分裂和增大的结果。细胞生长是如何被控制的?这是发育生物学研究的基本内容之一。根据 2005 年的记录,世界上最重的南瓜重量可达 667kg(经过 120 天的生长)(Oster, 2005),其为何生长如此迅速?

对于植物来说,一般的生长是指有代谢活性的原生质数量的增加而引起植物的体积或重量的增加。生长基本上是不可逆的(不是完全不可逆,因为细胞水分和贮藏物的增减、原生质的代谢和合成都影响生长并造成生长某种程度的可逆性),它可通过细胞分裂增加细胞数目和细胞体积的增大来实现。例如,根、茎、叶、花、果实和种子体积的扩大或重量增加,都是典型的生长现象。当细胞伸长和增大时,细胞壁的构造(architecture)必须改变以适应掺入新物质,增加细胞的表面,诱导原生质体吸水。原生质体所形成的渗透压(turgor)是细胞增大所必需的,该渗透压通常保持相对恒定,以便形成使细胞扩展的张力。对细胞壁松弛的调节是决定细胞增大速率的原初因素。因此,那些调节细胞壁松弛的因素都将影响细胞的增大从而影响植物细胞的生长。细胞通过维持恒定细胞壁的增

厚,可使细胞增大数十倍、数百倍乃至数千倍。大多数的植物细胞,其生长和新细胞壁物质的沉积都是非常规律地沿整个增大的细胞壁进行,而在一些如花粉管、根毛那样具有顶端生长(tip growth)的细胞中,细胞壁新物质沉积和生长则只局限于细胞的顶端。

对生长的测定都是采用对体积和重量的测定。体积增加是通过测定其长度、高度、宽度、半径或面积来完成;重量的增加是通过测量整株或其部分的收获量(鲜重和干重),鲜重常因植物的水分状况而有所差异。但在某些情况下,测干重不能反映生长的增加。例如,种子在黑暗中萌发所形成的黄化幼苗,其体积和鲜重都有所增加,但由于呼吸作用时 CO_2 的释放,使该幼苗的干重比萌发前的种子干重还轻。此外,当莴苣和小麦的种子用适当强度的放射性同位素钴 $^{60}(\text{Co-60})$ 照射之后,种子萌发后所成的幼苗,其DNA合成、有丝分裂和胞质分裂都将停止,这种幼苗特称为 γ -小植株(γ plantlet)。该幼苗细胞巨大,可成活3周左右(Salisbury and Ross, 1978)。这个例子说明,生长有时可以不必有细胞分裂的参加。

有的学者还将生长分为广义生长(或大生长)、有限生长和无限生长、营养生长和生殖生长。广义生长包括从种子(或其他繁殖器官)萌发、直到形成下一代种子的整个过程。这显然是把分化和发育都包括在这一大生长之中。无限生长主要是指植物茎和根的生长,由于有其分生组织的存在,可以在很大范围内能无限制地继续生长。相对而言,叶子、果实和花的生长为有限生长(因为它们达到一定大小之后便停止生长)。

1.2.2 分化

个体发育的基础是细胞分化(differentiation)。受精卵是一个单细胞,可以产生数百个不同类型的细胞,如表皮细胞、分生细胞、叶肉细胞、纤维细胞、腺细胞、保卫细胞、筛管、导管和石细胞等,这些细胞的差异性就是分化的结果。因此,分化是分生细胞发育成为在结构和功能有特异性的各种类型的细胞、组织或器官的过程。分化可在器官水平、组织水平、细胞水平,甚至分子水平上表现出来。例如,从一个受精卵细胞转变成胚的过程(称为胚胎发生过程);由生长点的分生细胞转变为叶原基和花原基的过程;由形成层细胞转变为输导组织、机械组织和保护组织的过程;在变绿的叶绿体中形成光合基因(在白色体中则无)等过程都是分化现象。一个细胞的结构和功能的特异性取决于蛋白质及其合成。除极少数的例外,一种特定有机体的所有细胞都带有相同的遗传信息,因此分化了的细胞有相同遗传基础,但表达不同的基因,分化过程包含不同基因表达的维持和调控。在细胞分裂中如果某些细胞遗传了不同细胞质成分或它们从其他细胞或环境中获得了信号,这些细胞即可表达不同的基因。

一个单细胞如何通过一系列的细胞分裂和细胞分化产生有机体的所有形态和功能不同的细胞,这些细胞又如何通过细胞之间的相互作用共同构建各种组织、器官和一个有机体并完成各种发育过程,这些都是发育生物学研究的主要任务。

在植物组织培养过程中经常使用脱分化(dedifferentiation)和再分化(redifferentiation)的概念。一般来说,脱分化是指已经分化的细胞、组织和器官在人工培养的条件下变为未分化的类似分生组织那样的细胞或组织。例如,愈伤组织是脱分化的组织。再分化是指已脱分化的组织,如愈伤组织在合适条件下可以再分化为植物的器官

和体细胞胚等。细胞分化一般还经过感受态(competence)、定型(commitment)和决定(determination)等过程。感受态是细胞已处于能接受内、外信号的状态,如果细胞已经接受这些内、外信号,即处于定型状态,然后,便会进入新的生化途径并决定了它们的发育命运,在此基础上表现出的变化都是分化。

1.2.3 图式形成

图式形成(pattern formation)是指胚中的细胞开始形成机体发育体制(body plan)的雏形,然后再发育出各个器官的精细结构的过程。为了发育的连续性,每个细胞必须以合适的方式在胚中处于合适的位置,以便在正确区域产生正确分化的细胞类型。类型相同的细胞所形成的结构与其所处区域相统一。细胞根据它们所处的位置所发生的特化过程称为位置特化(regional specification)。图式形成包括位置特化和机体的轴性特化(axis specification)过程,动物胚胎的前-后轴性和背腹轴性及植物胚胎的顶-基轴性和径向轴性的建立是在胚胎中出现的第一个图式形成的事件。

图式形成概念的使用,始于对果蝇突变体的分析。这一概念为分类许多动物发育突变体提供了一个理论框架。在动物中上述的那些轴性可通过源于母体基因产物在卵中的分布而预决定下来,或为了胚胎本身的基因表达或蛋白质活性必须从环境中获得物理信息[如非洲爪蟾属(*Xenopus*)精子入口];这些基本轴性一旦形成,沿着轴性的各种细胞位置即被特化,这种特化作用常常通过将一个轴分成各种发育的分室(developmental compartment),并分配相应的位置值(positional value)来实现。已经证明位置值可依据细胞在一个形态素梯度(morphogen gradient)中所处的位置加以分配。所谓形态素是一种能影响细胞发育命运的物质,它们往往在轴的一端合成并向轴另一端扩散,这样就形成了形态素梯度并赋予位置信息(positional information)(见1.2.7节)。随着该物质的浓度变化可对发育起着不同的作用。

图式形成是由一种分级基因网络所驱动,在这一基因网络中,那些决定机体发育布局最基本状态的最早期的基因是一类母体表达的基因。在这些母体基因作用下所建立的简单的图式形成特点可使合子基因(即在胚中表达的基因)表达进一步的细化完善。从蠕虫至哺乳动物机体发育布局的一个共同特点是模块化(modularity)以及在胚胎发生的早期阶段机体将按各种模块(module)、体节(segment)或副体节(parasegment)进行发育。那些决定体节之间位置关系以及每个体节各自特点(如它们的轴性)的基因进行有序的表达。通过各同源异型选择者基因(homeotic selector gene)的作用后,选择了特定的发育程序,从而使每个模块,如腿节(leg segment)、翅节(wing segment)被打上带有发育各自属性的烙印,然后这些同源异型选择者基因开启了确定体节属性的其他基因,从而形成了各种体节器官的特色。

图式形成这一概念应用于植物的发育也不乏范例。第一个图式形成过程的表现是主要集中在那些干扰花器官正常图式形成的突变体上,特别是那些一轮花器官的发育为另一轮花器官的发育所代替的同源异形突变(homeotic mutant)(见第7章)。正如动物中相应的同源异形基因那样,对于各种花轮上的花器官属性的特化,花的同源异形基因(homeotic gene)有其相应选择者基因的功能。花同源异形基因所编码的产物属于

MAD-box转录因子。

尽管动物和植物在进化上也有共同的祖先,它们的基本代谢和细胞结构非常相似,但它们图式形成的过程却不是完全相同,因为它们在成为多细胞有机体之前的1亿年前就各自进化了。

玉米中有一组含同源异形区域(homeodomain)的转录因子,即 knotted 类似(knotted-like)基因家族,它们是首次在玉米中被鉴定与植物胚后发育的图式形成相关的基因(Jackson et al., 1994),但它们并非以成簇的组织形式在一起,也被证明不具有同源异形选择者的功能,但其中一个在分生组织中表达的转录因子 *knox1* 亚家族基因,可在细胞增殖的空间上起非常重要的作用。

尽管动物发育与植物发育具有差异,一般植物发育生物学家还是接受植物发育具有图式形成这个基本特征的观点。主要是因为图式形成这一概念可超越不同的有机体,因此,在动、植物中就直接采用这一概念去解释有关胚胎发生中的问题(见第2章2.2.2的第2节),这个概念也已成功地应用于花的发育中(Howell, 1998; Twyman, 2001)(见7.4节)。

1.2.4 形态发生

形态发生(morphogenesis)是指机体结构和外形产生的过程。形态发生的结果形成了各种特化的机能和结构,如在外部分化出各种器官,在内部则形成能执行不同功能的各类细胞、组织和组织系统。在形态发生过程中,已分化的细胞被有组织地组建成精巧复杂的组织和器官,这些器官也按给定的方式排列组合起来。在这一过程中涉及细胞是如何确定其本身的位置并形成精确的细胞结构的问题。在发育的早期,形态发生有助于推动正在进行的发育程序,使细胞集中在一起经历诱导的相互作用(inductive interaction);在发育的后期,形态发生是对发育编程的一种响应,即已分化的细胞可感知自己在胚中的位置并按已编程的发育程序产生适当的位置结构(regionally appreciate structure)。

形态发生可以体现在细胞、组织和器官水平上。例如,气孔保卫细胞和根表皮细胞中根毛的形态发生;根、茎中维管组织的形态发生和花器官的形态发生等。在环境因子等外部和体内发育信号的协同作用下,植物根和茎分生组织选择性向外生长中所表现出的不同细胞增殖的速率、不同细胞分裂模式所反映的有丝分裂纺锤体不同取向、叶子发育时细胞分裂由垂周分裂向平周分裂的转变、细胞融合、细胞死亡和细胞形状的改变等都属形态发生的过程。

在植物发育过程中,形态发生还涉及植物独有的暗形态建成(skotomorphogenesis)和光形态建成(photomorphogenesis)(图1-3)。暗形态建成是指在持续黑暗条件下,被子植物会出现黄化现象(etiolation),其形态特点包括根的发育减缓、芽形成一个弯钩、茎或下胚轴迅速伸长、叶片和(或)子叶折叠而不长大、苗端分生组织不活跃和质体黄化(无叶绿素及叶绿体前体)。黄化现象是在土壤表面下种子萌发的一种适应;这种环境可使茎迅速生长,以形成芽的弯钩,这一结构可减轻芽的受损而利于芽伸出土壤,保护苗端分生组织(Howell, 1998; Twyman, 2001)。

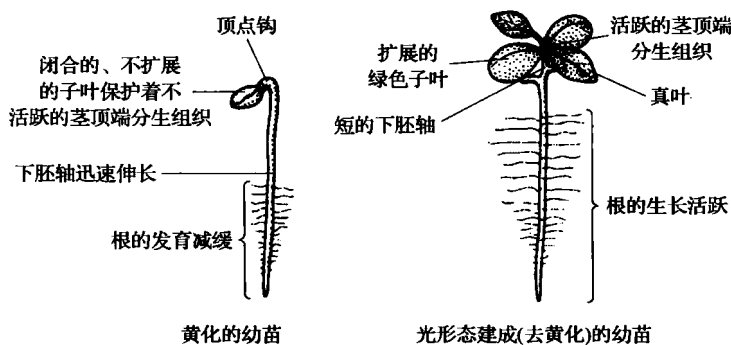


图 1-3 黄化幼苗和光形态建成(去黄化)幼苗的形态特点(Leyser and Day, 2003)

与之相对,在光照的条件下,植物也发生一系列的形态发生,植物对光的这种反应与光合作用有所区别,即为光形态建成,也称去黄化(de-etiolation),其形态特征包括根完整的发育、茎伸长受光的抑制、生长缓慢(与黑暗中相比)、叶片和子叶不折叠并长得较大、质体发育成叶绿体、苗端分生组织活跃、色素合成和光合作用所需的基因表达活跃。对这两种形态建成发育机制的研究是一个非常活跃的研究领域,目前已分离、鉴定了各种光的受体及其下游与信号传导相关的突变体及其基因,对所涉及的基因及其功能的正、负调控机制的认识正在不断深入。

1.2.5 性别分化与生殖

大部分的被子植物都是雌雄同花植物,少数为雌雄异花和雌雄异株植物。植物性别的分化和决定与动物有所不同,动物的性别在胚胎发生时就被决定,而植物的性别要在生长、发育甚至成熟的某个阶段才被决定下来,因此,植物的性别分化呈现不稳定性,易受环境因素的影响,这也为人工调控其性别提供了机会。

被子植物的性别分化一般是指雌花和雄花的分化。用于植物性别分化机理研究的材料主要是单性花和两性花的植物。目前的研究表明,被子植物至少存在三种性别决定体系(sex determining system)(Janousek and Mrackova, 2010):性染色体性别决定体系、表观遗传性别决定体系和基因与植物激素及环境因子相互作用的性别决定体系。但目前尚未在性染色体性别决定体系中克隆到性别决定的特异性基因(见第5章)。

花粉和胚珠中的卵子是非常特化的细胞,它们结合后,可按预编的指令形成有机体,并代代相传。在这些发育过程中,细胞是如何传代,在细胞的核质中是什么指令或信息使之具有这一功能。这些问题都是急待回答的发育生物学问题(见第6章)。

1.2.6 发育突变和发育拟表型

鉴定在发育系统上有特异缺陷的突变体是研究发育遗传基础的一个重要手段。因为发育基因控制着诸如图式形成等的发育基本过程,突变可改变细胞发育的命运或干扰除被突变基因以外的其他基因的表达模式。因此,突变体一般都有显著而特别的表型,通过它们表型的变化不但可以了解其形态学的信息,也可以揭示其与发育相关的基因功能。

根据突变体的表型是否是杂合子,可将突变分成隐性突变(recessive mutation)、显性突变(dominant mutation)和半显性突变(semi-dominant)。隐性突变是产生隐性遗传效应的基因突变;突变体与原始亲本杂交的 F_1 不表现突变性状,待到 F_2 因分离才可产生突变体的表型(突变性状),自然界一般较多地发生隐性突变。显性突变是产生显性遗传效应的基因突变,突变体与原始亲本杂交, F_1 表现突变性状,突变通常在一对等位基因的其中之一发生。半显性突变是指在纯合子中的突变性状程度比杂合子中的突变性状表现更强的突变。

根据基因活性突变的效应,突变又可分为失能突变(loss-of-function mutation)、获能突变(gain-of-function mutation)、单倍不足(haplo-insufficiency)和显性负突变(dominant negative mutation)。失能突变将导致基因活性的降低或消除,而获能突变则使基因活性增强或赋予基因全新的功能。获能与失能以及显性与隐性突变并不相互排斥,大部分失能突变是隐性的,因为其突变的影响是数量性的,而野生型等位基因可产生该系统足够的产物以保证功能的正常[即使在基因表达完全被消除的最极端情况下,即在无效突变(null allele)的情况下,野生型中仍有 50% 等位基因产物在起作用,这一作用常足以发挥该基因的正常功能]。如果这一等位基因的功能不足发挥作用,这一失能突变就产生了一个半显性的表型,该突变状态就称为单倍不足。由于基因产物的剂量由 50% 降到零,因此纯合子突变体的表型明显。如果一个等位基因的失能突变产生了定性的而不是定量的效应,则该突变可呈现完全的显性突变,而其突变基因的产物将干扰野生型该基因产物的功能,因此,这种突变也称为显性负突变。获能突变一般属于显性或半显性的突变,同源异型突变(homeotic mutant)即属于这类突变(见第 5 章,花的发育)。

还有许多发育的突变称为致死突变(lethal mutation),因为这些突变引起胚胎死亡;有些基因有一系列的等位基因,突变后也可产生相应的各种缺陷的表型,其等位基因可根据它们存活的可能性分为强致死和弱致死。也有许多发育基因是多效的(pleiotropic),即它们在不同的发育阶段发挥不同的功能。许多发育基因编码转录因子或信号转导成员,并在不同的体系中经常重复使用同样的信号传导途径和转录因子,这些就是基因多效性的反映,但这些突变常产生强胚胎致死的表型,因此也难于观察它们对后期发育阶段的作用。在这种情况下,一种称为条件突变(conditional mutant)的突变体就显得非常有用,这些突变常影响蛋白质的结构,因此在正常的允许的条件(permissive condition)下,这些蛋白质可发挥通常的功能。但在局限的条件(restrictive condition)下,如在高温下诱导的温度敏感突变体(temperature-sensitive mutant,用其词首缩写“*ts*”表示),其蛋白质变性并出现突变体的表型。

发育的拟表型(phenocopy)是指植株具有突变体表型的形态,但这一表型并非由于基因突变的结果。拟表型的产生是基因的功能受到干扰,而不是基因的表达受到干扰。例如,表观遗传(epigenetic)的作用,即改变的不是基因的核苷酸序列,而是在基因外部的成分。这种作用可以影响许多生命过程,包括 DNA 甲基化、染色质结构改变、RNA 和蛋白质水平的相互作用以及与环境的作用。例如,番茄突变体 *lanceolate* 具有披针型的单叶(野生型中是羽状复叶),同时植株成为丛生着披针型的单叶和卷须状花序。遗传研究表明,引起该突变的基因在杂合子中是半显性基因,如果将野生型的种子萌发后的幼苗顶

端分生组织用生长素极性运输抑制剂 *N*-(1-萘基邻氨基甲酸苯甲酸)[*N*-(1-naphthyl) phthalamic acid, NPA]和 9-羟基-9-芴甲酸(9-hydroxyfluorene-9-carboxylic acid, HFCA)处理,可将其正常的无限生长的特性转变为有限生长的状态,呈现出 *lanceolate* 纯合子突变体的拟表型,形成显线性的卷须状的苗(tendrill-like shoot)(Avasarala et al., 1996),发育的拟表型可为发育突变的表型提供信号,也容易在难于进行基因转移的体系中产生。当不能用基因敲除方法去研究目的基因功能时,也许可通过注射反义 RNA、通过采用与核酶(ribozyme)结合和用抗体对抗目的蛋白的方式进行基因功能的研究。相反,如果注射大量野生型的 mRNA 和蛋白质,可以起类似于基因过量表达的作用,或模拟异位表达突变(ectopic expression mutant)。

有些突变的效应是细胞自主性的(cell autonomous),即其突变表型只局限于表现在细胞。例如,哺乳动物毛发上的色素突变,该突变只自然地发生在滤泡细胞,仅仅是长成头发的这类细胞发生突变,而头发周围的细胞是正常的。而另一些突变是非细胞自主性的(non-cell autonomous)。例如,当所表达的基因是编码信号传导分子,并在一个细胞中完全通过自然变异而被消除掉,该细胞周围的细胞就会因为这个信号分子的突变而受到影响。如果发生这种非细胞自主性突变部位的每一细胞都发生这种突变时,是不可能确定各个细胞的作用。由于起响应的细胞不能接受或加工这一传导信号,这种信号的诱导反应就消失。

1.2.7 细胞层结构与嵌合体现象

大多数双子叶植物的苗端分生组织(shoot apical meristem)由 3 层相互独立的细胞层(cell layer)组成(见第 3 章图 3-1),其中不同层次的细胞分裂取向不同(图 1-4)。最外两层细胞分别称为 L1 (第 1 层)和 L2(第 2 层),组成了被称为原套(tunica)的结构,这些细胞垂周分裂后,进行平周方向的细胞增大,故各层次细胞的基因型得以保持不变;而内层细胞 L3 (第 3 层)即构成被称为原体(corpus)的结构,其细胞平周分裂后,可进行多向的细胞增大。L3 层细胞实际上不是单一的细胞层,而是由一个层次不分明细胞群组成。研究表明,第 1 层细胞发育成植物的表皮组织、表皮毛及气孔细胞;第 2 层细胞发育成植物栅栏组织和生殖细胞组织(花粉和卵细胞),因此植物种子由第 2 层细胞发育而成,第 2 层细胞也可同时影响花色的表现;第 3 层细胞则发育成植物内层薄壁组织以及形成扦插植物的根,同时也影响花序及花数(Carles and Fletcher, 2003)。

植物嵌合体(chimera)的成因与苗端分生组织的细胞层结构特点密切相关。植物嵌合体是指含有 2 种或 2 种以上基因型的植物组织或植物个体。例如,黄边绿心型天竺葵(*Pelargonium zonale*)的苗端分生组织、茎秆、叶柄和叶均由两种基因型细胞有规律地组成,是植物嵌合体的典型例子。研究植物嵌合体的基础理论及应用在奇花异草的育种上有重要意义。当苗端分生组织的某一细胞在植物生长的过程中发生突变时,它们的细胞变异就只能被限制在其原始层区内进行分裂、增殖和生长,从而导致其所在的层区或部分细胞成为变异体。这种变异细胞和未突变的正常细胞可以形成一个共同的植物苗端分生组织,进而形成特有的植物嵌合体现象,按其结构可分为平周型嵌合体(periclinal chimera)、扇区型嵌合体(sectorial chimera)和混合型嵌合体(mericlinal chimera)

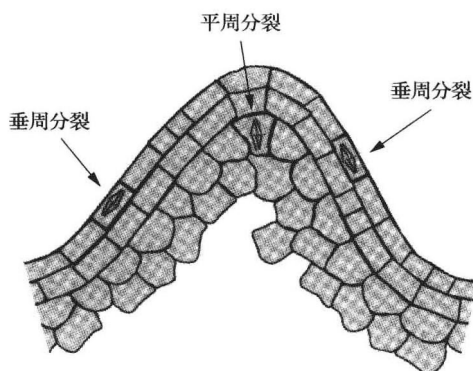


图 1-4 细胞分裂方向图示(Howell, 1998)

平周分裂(periclinal division)也称切向分裂,它的细胞分裂面与细胞表面平行(有丝分裂纺锤极与组织细胞表面垂直);垂周分裂(anticlinal division)也称径向分裂,它的分裂面与组织细胞表面垂直(有丝分裂纺锤极与组织细胞表面平行)

(Howell, 1998; 李明银和何云晓, 2005)。

平周型嵌合体是指不同的遗传型细胞平周(与表面平行)分布于生长点原基的不同层次中的嵌合体[图 1-5(a)]。平周型嵌合体内外不一,但相对稳定。常见的栽培植物嵌合体均为平周型。平周型嵌合体还可分为单层式、双层式和三层式。单层式是指只有一层细胞发生变异者;双层式则指二层细胞发生变异者;三层式是指所有的三层细胞遗传型互不相同者。其中最为少见的是三层式嵌合体植物。

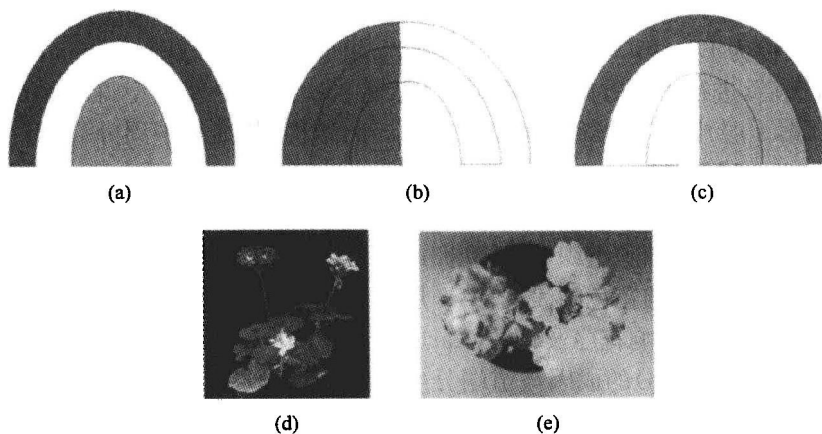


图 1-5 常见的植物嵌合体类型(李明银和何云晓, 2005)(另见彩图)

(a) 平周型嵌合体(绿-白-绿);(b) 扇区型嵌合体(绿-白);(c) 混合型嵌合体;(d) 天竺葵异花型嵌合体;(e) 天竺葵异叶型嵌合体

扇区型嵌合体是指在生长点原基不同区域内呈现扇区分布着不同的遗传型细胞的嵌合体[图 1-5(b)],形成左右相异的形态。扇区型嵌合体很不稳定,容易因某一基因型的消失而纯化,失去其嵌合性。

混合型嵌合体是指在同一生长点原基上出现不同遗传型的细胞平周分布和扇区分布混合的嵌合体[图 1-5(c)]。混合型嵌合体只是一种过渡类型,容易发展成平周型嵌合体。

通过嫁接技术,可获得不同细胞层的平周型嵌合体。例如,L1 层细胞可由嫁接的某部分形成,而 L2 层和 L3 层则由其他部分形成,在这样的嵌合体中其细胞层的来源(origin)可用适当的细胞层标记物进行鉴定。Szymkowiak 和 Sussex(1992)用此法确定了番茄的特异表达 *fasciated* 基因的细胞层,该层细胞将影响每轮花的器官数目。通过嫁接,他们获得了介于野生型番茄与 *fasciated* 突变体之间的嵌合体。又如,突变体 *hairless* 是 L1 层的特异性标记,而突变体 *anthocyanin gainer* 的 L2 层细胞以含花青素为标记。具有 *fasciated* 基因表达的 L3 层细胞对决定营养性分生组织大小及每一轮花的器官数目起着最明显的作用(Szymkowiak and Susoex,1992)。在比较稳定的细胞层发育中可发生细胞层的细胞转移或其中一层细胞入侵其他细胞现象。当嵌合体内个别具有分裂能力的细胞分裂方向发生改变时,可引起嵌合体细胞类型的转移,从而形成新的嵌合体类型。细胞可以以穿突、侵入和交换三种不同的方式进行转移。细胞穿突指内层细胞(第 2 层和第 3 层)穿突进入外层细胞并继续增殖形成新的嵌合体;细胞侵入指外层细胞侵入内一层细胞而发展形成新的嵌合体;细胞交换指相邻的不同遗传型细胞层进行位置交换而形成新的嵌合体。细胞类型的转移与细胞的遗传性及生长竞争力强弱有关。例如,在梨树中,尽管维管组织和髓组织常来自于 L3 层,但有时也来自于 L2 层(Dermen, 1953)。这一细胞层入侵的频率取决于器官和植物类型。在玉米花药的发育中,每一次细胞分裂细胞层入侵率可达 10^{-3} (Dawe and Freeling,1990)。入侵细胞(或其后代)被赋予被入侵细胞层的细胞特性,并被强迫接受了新的发育命运。这一现象更说明是位置信息而不是细胞谱系决定植物细胞层发育的属性(identity)(见 1.2.8)。

与植物嵌合体相对应的是存在于动物发育中的镶嵌体,镶嵌体是由来自一个共同祖先而具有不同基因型的细胞所构成的个体(即是不同基因型细胞无性繁殖体发生的一种突变)。产生镶嵌体有多种途径,如可用 X 射线照射果蝇,引起有丝分裂的重组(mitotic recombination)而产生果蝇的镶嵌体。嵌合体常可通过胚融合、或嫁接、或将 DNA 导入所选胚中的细胞群体中产生。镶嵌体和嵌合体可使不同基因型的组织并列在一起。

1.2.8 细胞谱系与细胞位置信息

细胞谱系(cell lineage)与其胚胎发生阶段未分化组织的来源有关。固定的胚胎祖细胞(progenitor)在一定范围内形成分化细胞,理论上任何成年细胞都可追溯其祖细胞。动物发育策略可分为镶嵌发育(mosaic development)和调制式发育(regulative development)。细胞质决定子(cytoplasmic determinant)诱导的信号都可控制细胞的发育命运,如果发育是完全由细胞质决定子所控制,则每个细胞的命运取决于它的细胞谱系,而与它在胚中所处的位置无关,这种发育称为镶嵌发育。与之相反,如果发育完全是由诱导的相互作用所控制,每个细胞的命运则取决于它在胚中所在的位置,而与它的细胞谱系无关,这种发育称为调制式发育。