

植物种子大小调控机制的研究进展

张雪晶^{1,2}, 江文波¹, 庞永珍^{1,*}

¹中国科学院北方资源植物重点实验室/北京植物园, 中国科学院植物研究所, 北京100093; ²中国科学院大学, 北京100049

摘要: 种子大小是植物的一个重要品质性状,也是影响作物产量的一个关键因素。近年来,研究人员在种子大小调控机制方面取得了很重要的研究进展,鉴定了许多调控种子大小的基因。对调控种子大小机制的研究可为作物育种提供重要的理论依据,也可利用调控种子大小的基因实现作物的增产。本文主要以模式植物拟南芥和水稻为例,从泛素、转录因子和激素等方面入手,综述了各类因子调控种子大小的分子机理,以期从事相关工作的研究人员提供有益的参考。

关键词: 种子大小; 种子发育; 调控基因

对人类而言,种子是食物和工业原料的重要来源。种子大小是作物驯化的一个主要农艺学特征,是影响作物产量的一个关键因素,也是衡量植物品质的一个重要性状。目前对种子大小形成机制的研究是种子生物学研究的热点(Li等2015)。对植物本身而言,不同种间的种子大小差异很大,这一方面是植物进化的结果,另一方面也影响着幼苗的生长,例如,种子的大小与幼苗初期的大小呈正相关,原因在于大种子含有更多的营养物质,有利于萌发和幼苗的自养生长(Moles等2005)。

单子叶和双子叶植物的种子发育都起始于双受精过程,受精后的卵细胞(合子)形成胚(二倍体),与此同时,受精后的中央细胞(central cell)形成胚乳(三倍体)(Bleckmann等2014)。胚珠是在双受精之前形成的,胚珠的数目与种子的数目紧密相关,决定了作物的产量。双受精之后,胚珠发育成种子,珠被发育成种皮(Li等2015)。

双子叶植物的种子发育主要包括胚乳的增殖和胚的生长(Garcia等2003)。胚乳经过快速增殖和扩展后形成一个大的多核细胞(多核体, syncytium),使种腔的尺寸和容量都大幅度增大;随后胚乳细胞化(cellularization)形成许多单细胞。在拟南芥中,胚乳细胞化完成时,成熟种子的大小已经基本确定(Garcia等2003)。胚乳可能发出信号调控胚的发育或者为胚提供一个物理空间供其生长,但是也限制了种子的大小(Garcia等2003)。在胚乳的发育过程中,胚乳为胚的发育提供营养,同时胚也逐渐占据了胚乳的空间(Sun等2010)。

相对于双子叶植物,绝大多数单子叶植物[如水稻(*Oryza sativa*)]的胚乳并未消失,使得胚乳成为成熟种子的重要组成部分(Chaudhury等2001)。另外,单双子叶植物的珠被均经历了细胞分化以

及色素、粘液质和淀粉粒的积累,进而形成成熟的种皮(Beeckman等2000),种皮的存在限制了种子的最终大小(Haig 2013)。种子的珠被和胚乳的生长起始于胚之前,而且很多种子在胚生长并未结束时已经不再增大(Sundaresan 2005)。因此,二倍体的胚、三倍体的胚乳和母源的珠被三者协同生长,共同影响了种子的大小(Bleckmann等2014)。本文重点总结了近年来研究人员在IKU-MINI3-SHB1途径、泛素途径、转录因子途径、激素相关途径等方面取得的研究进展,综合阐述并分析了不同途径通过影响胚、胚乳和珠被的发育进而调控种子大小的分子机制(图1和表1)。

1 IKU-MINI3-SHB1调控机制

IKU-MINI3-SHB1途径是植物种子胚乳早期生长阶段的一种重要调控机制,该途径涉及HAIKU1 (IKU1)、HAIKU2 (IKU2)、MINISEED3 (MINI3)和上游的调节因子SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE1 (SHB1)。

IKU1编码一个含有VQ结构域的蛋白(Wang等2010),而IKU2编码产生亮氨酸受体激酶(Garcia等2003)。拟南芥*iku1*和*iku2*突变体中胚乳细胞化提前,因此抑制了胚细胞的增殖和珠被细胞的伸长,导致胚乳减小,种子变小(Garcia等2003)。MINI3编码WRKY10蛋白(WRKY家族的一个转录因子),其突变体种子的表型与*iku1*、*iku2*一致(Luo等2005)。IKU1可以与MINI3相互作用(Wang等2010)。在*iku1-1*突变体中,IKU2与MINI3的表达量降低;在

收稿 2016-04-11 修定 2016-06-21

资助 国家自然科学基金(31370335)、国家重点基础研究发展计划(2013CB127002)和中国科学院知识创新工程重要方向项目(39391503-7)。

* 通讯作者(E-mail: yzhpang@ibcas.ac.cn)。

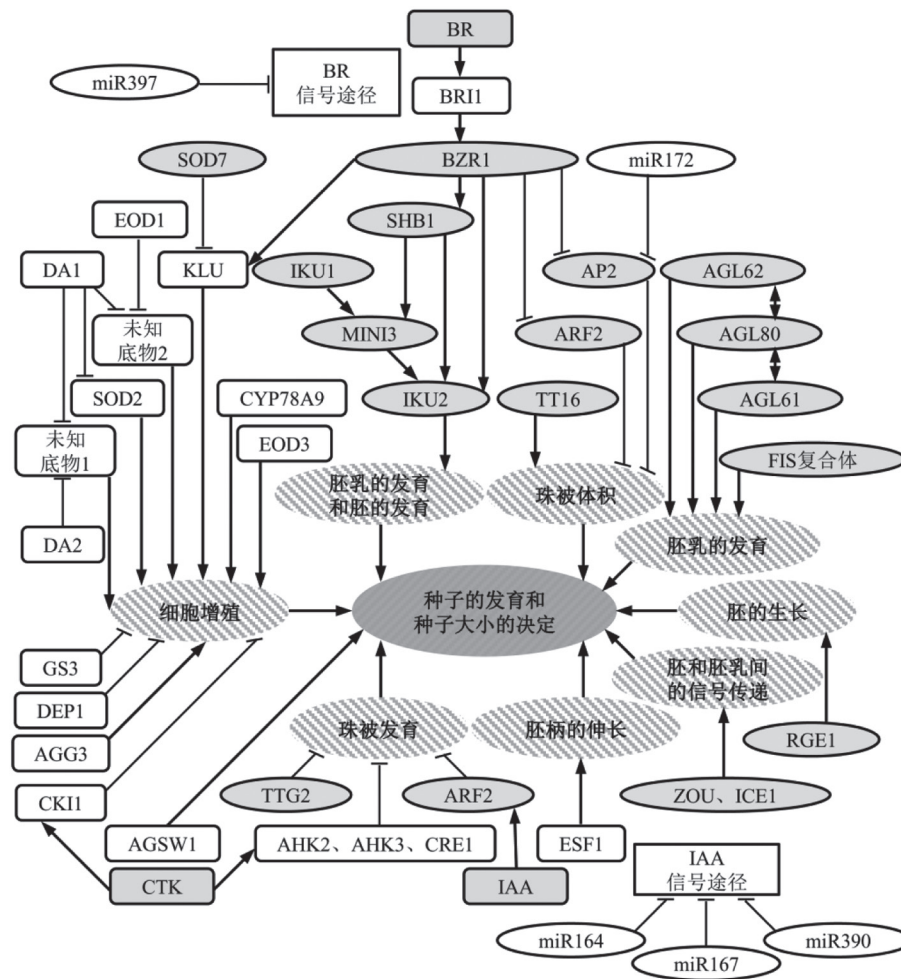


图1 植物种子发育和大小的调控网络

Fig.1 Regulatory network of seed development and size in plants

□表示结构基因编码的蛋白, ■表示激素, ○表示miRNA, ●表示转录因子, □表示信号途径, ●和●都表示种子发育的生理过程; 各个基因的全称见正文。

*mini3-1*突变体中, *IKU2*的表达量降低; 而在*iku2-3*突变体中, *MINI3*的表达量不变(Luo等2005)。这些数据充分表明*MINI3*位于*IKU1*和*IKU2*之间(图1)。

*SHB1*是一个转录共激活子(Kang和Ni 2006), 在种子发育的过程中正调控细胞的大小和数目(Zhou等2009), 该基因的功能获得型植株*shb1-D*的种子增大, 该基因的功能缺失型植株*shb1*的种子减小。在种子发育的早期, *SHB1*可能通过与其他蛋白相互作用调控*MINI3*和*IKU2*的表达, 使种腔增大、胚乳生长加快; 在种子发育的后期, *SHB1*通过独立于*IKU2*的作用方式, 使胚的细胞增殖和胚的扩展加速(Zhou等2009)。SHB1除了对胚乳具有调控作用外, 是否能直接调控胚的发育目前还不清楚。

近期, Xiao等(2016)在油菜(*Brassica napus*)中也发现了类似的IKU-MINI3-SHB1调控机制, 说明该调控机制在十字花科中可能是保守的。

2 泛素途径相关调控机制

泛素是一类小分子多肽, 能以共价结合的方式与蛋白质的赖氨酸相连(Verma等2004)。泛素化是指在ATP的参与下, 蛋白质被3种酶(泛素活化酶E1、泛素结合酶E2和泛素连接酶E3)依次催化, 形成蛋白质与一条泛素聚合链相结合的复合结构, 该复合体进入蛋白酶体后被降解为肽段, 这就是生物大分子在胞质中降解的泛素-蛋白酶体途径(Verma等2004)。研究表明, 泛素途径相关蛋白参与调控植物种子大小(Li等2008)。

表1 植物中调控种子大小和发育的因子

Table 1 Factors involved in the regulation of seed development and size in plants

类别	蛋白名称	物种名称	登记号/位点	生物学功能	参考文献
IKU-MINI3-SHB1	IKU1	拟南芥	AT2G35230	含VQ结构域的蛋白	Garcia等2003; Wang等2010
	IKU2	拟南芥	AT3G19700	亮氨酸受体激酶	Garcia等2003; Luo等2005
	MINI3	拟南芥	AT1G55600	WRKY转录因子	Luo等2005
泛素途径相关因子	SHB1	拟南芥	AT4G25350	转录共激活子	Zhou等2009
	DA1	拟南芥	AT1G19270	泛素受体蛋白	Li等2008
	DAR1	拟南芥	AT4G36860	泛素受体蛋白	Li等2008; Peng等2015
	DA2	拟南芥	AT1G78420	E3连接酶	Xia等2013
	SOD7/NGAL2	拟南芥	AT3G11580	AP2/B3类转录因子	Zhang等2015
	SOD2/UBP15	拟南芥	AT1G17110	泛素特异的蛋白酶	Du等2014
	DPA4/NGAL3	拟南芥	AT5G06250	AP2/B3类转录因子	Zhang等2015
	EOD1/BB	拟南芥	AT3G63530	E3连接酶	Disch等2006; Li等2008
	GW2	水稻	EF447275	E3连接酶	Song等2007
	TaGW2	小麦	JN896622, JN896623	E3连接酶	Su等2011
	ZmGW2	玉米	EU968771, FJ573211, EU962093	E3连接酶	Li等2010
	UBP15	拟南芥	AT1G17110	泛素特异的蛋白酶	Liu等2008; Du等2014
	AP2	拟南芥	AT4G36920	AP2/EREBP转录因子	Jofuku等2005; Ohto等2005
	ANT	拟南芥	AT4G37750	AP2类转录因子	Elliott等1996; Mizukami和Fischer 2000
	AGL61	拟南芥	AT2G24840	MADS-box转录因子	Steffen等2008
转录因子	AGL62	拟南芥	AT5G60440	MADS-box转录因子	Kang等2008
	TT16/ABS	拟南芥	AT5G23260	MADS-box转录因子	Nesi等2002
	GORDITA/AGL63	拟南芥	AT1G31140	MADS-box转录因子	Prasad等2010
	PHERES1	拟南芥	AT1G65330	MADS-box转录因子	Köhler等2003
	OsMADS87	水稻	OS03G38610	MADS-box转录因子	Chen等2016
	OsMADS29	水稻	AK109522	MADS-box转录因子	Yang等2012
	TTG2	拟南芥	AT2G37260	WRKY转录因子	Johnson等2002; Garcia等2005
	RGE1	拟南芥	AT1G49770	bHLH转录因子	Kondou等2008
	AtZOU	拟南芥	AT4G27150	bHLH转录因子	Denay等2014
	ZmZOU	玉米	GRMZM2G147685	bHLH转录因子	Grimault等2015
	ICE1	拟南芥	AT3G26744	bHLH转录因子	Denay等2014

表1 (续)

类别	蛋白名称	物种名称	登记号/位点	生物学功能	参考文献
激素相关因子	ARF2	拟南芥	AT5G62000	生长素响应因子	Okushima等2005; Schruft等2006
	BG1	水稻	OS03G0175800	生长素响应因子	Liu等2015
	AHK2	拟南芥	AT5G35750	细胞分裂素受体	Werner等2003; Riefler等2006
	AHK3	拟南芥	AT1G27320	细胞分裂素受体	Werner等2003; Riefler等2006
	CRE1/AHK4	拟南芥	AT2G01830	细胞分裂素受体	Werner等2003; Riefler等2006
	Gn1a/OsCKX2	水稻	NM_001048837.1	细胞分裂素氧化酶	Ashikari等2005
	BRI1	拟南芥	AT4G39400	油菜素内酯受体	Jiang等2013; Zhu等2013a
	DET2	拟南芥	AT2G38050	油菜素内酯生物合成	Jiang等2013
	DWF4	拟南芥	AT3G50660	油菜素内酯生物合成	Jiang等2013
	D11	水稻	OS04G39430	油菜素内酯生物合成	Zhu等2015
	GASA4	拟南芥	AT5G15230	赤霉素调节的蛋白	Roxrud等2007
	KLU	拟南芥	AT1G13710	CYP78A5	Anastasiou等2007
	EOD3	拟南芥	AT2G46660	CYP78A6	Fang等2012
	GE	水稻	AB780362	CYP78A13	Nagasawa等2013
	BG2	水稻	OS03G30420	CYP78A13	Xu等2015
Activity of bcl complex (ABC1)激酶 G蛋白信号途径	TaCYP78A3-A	小麦	KP768392	CYP78A3	Ma等2015
	TaCYP78A3-B	小麦	KP768393	CYP78A3	Ma等2015
	TaCYP78A3-D	小麦	KP768394	CYP78A3	Ma等2015
	OsAGSW1	水稻	OS05G25840	ABC1类激酶	Li等2015
	AGG3	拟南芥	AT5G20635	G-蛋白γ-亚基	Chakravorty等2011; Li等2012
	GPA1	拟南芥	AT2G26300	G-蛋白α-亚基	Chakravorty等2011; Li等2012
	AGB1	拟南芥	AT4G34460	G-蛋白β-亚基	Chakravorty等2011; Li等2012
	GS3	水稻	DQ355996	G-蛋白γ-亚基类似物	Huang等2009
	DEP1	水稻	OS09G26999	G-蛋白γ-亚基类似物	Mao等2010
	FIS2	拟南芥	AT2G35670	多梳蛋白	Pien和Grossniklaus 2007
	FIE/FIS3	拟南芥	AT3G20740	多梳蛋白	Pien和Grossniklaus 2007
	MEA/FIS1	拟南芥	AT1G02580	多梳蛋白	Pien和Grossniklaus 2007
	MSI1	拟南芥	AT5G58230	多梳蛋白	Pien和Grossniklaus 2007
多梳蛋白					

*DA1*编码一个泛素受体蛋白,该蛋白含有两个泛素作用结构域(UIMs)和一个锌指结构域(LIM)(Li等2008; Xia等2013)。拟南芥的*DA1*基因是泛素途径中调控种子大小的抑制子,拟南芥*dal-1*突变体的种子比野生型大(Li等2008)。在调控种子大小的过程中,另外一个泛素途径相关基因*SOD7*通过限制珠被和种子发育过程中的细胞增殖来调控种子的大小。*SOD7*编码的NGATHA-like protein (NGAL2)是一个含有B3结构域的转录抑制子,该基因的功能获得型植株*sod7-1D*是*dal-1*的抑制子,*sod7-1D*产生的种子比*dal-1*小(Zhang等2015)。过量表达*SOD7*后种子大幅度减小,而敲除*SOD7*及其同源基因*DEVELOPMENT-RELATED PcG TARGET IN THE APEX4 (DPA4/NGAL3)*后种子变大。*SOD7*能够直接结合*KLUH (KLU)*的启动子来抑制*KLU*的表达。遗传分析也显示*SOD7*、*DPA4*和*KLU*以相同的模式调控种子大小(Zhang等2015)。拟南芥中存在7个*DA1*相关蛋白(DARs),*DAR*和*DA1*的氨基酸序列具有很高的相似性,但是只敲除*DA1*或*DAR1*的植株并没有表现明显的种子表型,同时敲除*DA1*和*DAR1*之后的植株表型与*dal-1*相同,子代总是表现出母本的性状,因此*DA1*和*SOD7*都是通过母源调控的方式控制种子的性状的(Li等2008)。

*SUPPRESSOR2 OF DA1 (SOD2)*编码泛素特异的蛋白酶UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE15 (UBP15)(Du等2014)。*DA2*和*ENHANCER1 OF DA1 (EOD1)/BIG BROTHER*编码泛素连接酶(Disch等2006),这两个基因负调控拟南芥种子和器官的大小。*SOD2/UBP15*具有母源效应,通过促进珠被的细胞增殖发挥功能。*DA1*在体内和体外都能结合UBP15,调节UBP15的稳定性。但是UBP15独立于*DA2*和*EOD1*发挥作用,可能还有其他的泛素连接酶参与UBP15的泛素化和蛋白酶体的降解(Du等2014)。在*ubp15*突变体背景下突变*UBP16*之后能增强*ubp15*突变体的表型,说明*UBP15*和*UBP16*之间可能存在功能冗余(Liu等2008)。*DA1*与*UBP16*之间是否具有遗传上或分子上的联系还不清楚。

单子叶植物中也存在与拟南芥*DA2*基因类似的调控机制。水稻中的*GRAIN WIDTH AND WEIGHT2 (GW2)*是一个控制谷粒宽度和重量的基

因(Song等2007),*GW2*编码的蛋白也是泛素连接酶,并与拟南芥*DA2*具有很高的同源性(Xia等2013)。过量表达*DA2*的拟南芥植株和过量表达*GW2*的水稻植株都呈现出种子和器官变小的表型,说明二者的功能具有保守性(Xia等2013)。在小麦(*Triticum aestivum*)中也发现了*GW2*的同源基因*TaGW2-6A*、*TaHap-6A-A*和*TaHap-6A-G*,它们都与谷粒大小有关(Su等2011)。除此之外,单子叶植物水稻中的*BEAK-SHAPED GRAIN 1/TRIANGULAR HULL 1 (BSG1)*以及玉米(*Zea mays*)中的*ZmGW2-CHR4*和*ZmGW2-CHR5*均具有与*GW2*相似的功能(Li等2010; Yan等2013)。然而,目前这些泛素相关调节子的靶基因还不明确(Du等2014)。

3 转录因子调控机制

3.1 AP2类转录因子

AP2/EREBP (ethylene-responsive element binding protein)家族是植物十大转录因子家族之一,该家族中只有拟南芥的*APETALA2 (AP2)*蛋白以AP2命名。AP2含有包括68个氨基酸的DNA结合域,即AP2结构域(Jofuku等1994)。AP2除了在拟南芥花器官的调控过程中起重要作用外,还调控种子的发育(Jofuku等1994)。*ap2*突变体花结构异常,使得育性降低;种皮表皮细胞变长,胚细胞体积变大且数目增多,胚乳细胞中央液泡变大,胚乳细胞化延迟,使得种子变大。无论花粉供体是什么表型,*ap2*突变体的种子都比野生型大(Jofuku等2005)。*ap2*突变体种子与野生型种子相比含有更多的油脂和蛋白质,而且*ap2*突变体种子中己糖和蔗糖的比例是可变的。己糖和蔗糖的比值可以影响种子发育过程中有丝分裂活力和细胞伸展情况,因此AP2可能通过调节糖代谢来调控种子的发育(Ohto等2005)。另外,AP2受到microRNA172 (miR172)的调控,miR172含有一段21 nt的保守序列,这个保守序列可以与AP2基因的下游段结合,降解AP2基因,进而抑制AP2基因的表达(Chen 2004)。

另外一类AP2类转录因子是*AINTEGUMENTA (ANT)*基因,拟南芥中该基因编码一个*APETALA2-like*转录因子(Elliott等1996)。*ANT*通过调节茎的发育影响植物器官的大小。在*ANT*过量表达的拟南芥和烟草(*Nicotiana tabacum*)中,细胞数目的增多引起胚和茎生器官增大;在*ant*突变体中,细

胞数目的减少引起侧向茎生器官减小(Mizukami和Fischer 2000)。此外, *ANT*在胚珠发育过程中也可以调节珠被的细胞分裂, *ant*突变体在胚珠发育和珠被起始发育阶段发育不良(Mizukami和Fischer 2000)。因此, *ANT*很有可能是通过母源调节珠被发育来调节种子大小的。综合而言, AP2类转录因子可能以各种模式调控种子的大小, 拟南芥中可能还存在其他调控种子大小的AP2蛋白。

3.2 MADS-box类转录因子

MADS-box是一大类转录因子家族, 研究表明MADS-box蛋白参与拟南芥花和果实发育相关基因的调控(Erdmann等2010), 在植物中该家族分为I型和II型MADS-box基因, 部分I型MADS-box基因通过DNA甲基化修饰和组蛋白修饰等表观遗传机制影响配子和种子的发育; II型MADS-box基因则主要参与花的发育(Kapazoglou等2012)。

在拟南芥中, FEM111/AGAMOUS-LIKE80 (AGL80)调控中心细胞的发育和胚乳细胞化。在*fem111*突变体中, 中心细胞具有小核和小液泡, 不能产生胚乳(Portereiko等2006)。AGL61也在中央细胞和胚乳细胞中表达。在*agl61*突变体中, 中央细胞也出现小核和小液泡, 甚至中央细胞在授精之前就开始退化(Steffen等2008)。MADS-box蛋白优先形成特异的异源二聚体或同源二聚体, 例如, AGL61/80异源二聚体可能调控中心细胞发育的相关基因(de Folter等2005)。在*agl62*突变体中, 胚乳细胞核减少, 胚乳细胞化提前, 种子结构被破坏。除此之外, AGL80还能和AGL62相互作用(Kang等2008)。此外, 拟南芥的I型MADS-box基因*PHERES1* (*PHE1*)受到多梳蛋白在表观上的调控, 从而调控种子的发育(Köhler等2003)。水稻中的*OsMADS87*也受基因组印记的调控, 该基因通过对胚乳细胞化时期的调节而影响种子的大小(Chen等2016)。以上这些结果表明I型MADS-box印记基因对胚乳和种子的发育具有调控作用, 它们能够通过促进胚乳细胞增殖而抑制细胞化的发生(Lafon-Placette和Köhler 2014)。

TRANSPARENT TESTA16/Arabidopsis B_{sister} (*TT16/ABS*)属于ABC花发育模型的B型MADS-box基因。拟南芥中, *TT16/ABS*主要是在雌性生殖器官中表达(Nesi等2002)。拟南芥*tt16/abs*突变体起

初是由于种皮中缺乏缩合单宁而被鉴定, 该突变体的种子变大(Nesi等2002)。Gordita/AGL63是拟南芥中的另外一个B型MADS-box蛋白, *Gordita/AGL63*在胚珠和发育中的种子珠被中表达, 该基因突变后, 拟南芥的果实变大(Erdmann等2010)。在水稻中, B型MADS-box基因*OsMADS29*通过调控母源组织的细胞降解调节种子发育(Yang等2012; Nayar等2013; Yin和Xue 2012), 这些研究表明B类MADS-box转录因子可能是通过调节珠被或种皮的发育来调节种子大小的(Prasad等2010)。

3.3 WRKY类转录因子

WRKY家族是植物特有的转录因子, WRKY家族蛋白因其N端的60个氨基酸组成高度保守的WRKY结构域而得名。该家族中的*TRANSPARENT TESTA GLABRA2* (*TTG2*)可以调控种子的大小, 并主要在胚乳和珠被中表达(Johnson等2002)。TTG2对种子大小的控制严格遵守孢子体母本效应。在*ttg2*突变体中, 由于胚乳细胞化提前, 种子的胚乳体积减小, 导致种子小且圆(Johnson等2002); *ttg2*突变体的珠被细胞长度减小, 珠被或者种皮可能是从空间上直接限制胚乳的生长发育(Garcia等2005)。此外, 拟南芥*ttg2*突变体种皮中缩合单宁的合成和粘液质的积累受阻, 使得其种皮呈浅黄色; *ttg2*突变体的种子中积累了很多缩合单宁合成途径的中间产物, 使得其细胞伸长的反应能力改变(Johnson等2002)。TTG2对缩合单宁合成途径的调控可能也是其影响种子大小的原因之一, 但TTG2也可能通过直接调控珠被的细胞伸长影响种子的大小(Johnson等2002)。然而, 该家族中的*MINI3*却是通过IKU-MINI3-SHB1调控机制来调节种子的大小(Luo等2005), 与TTG2的作用机制完全不同。

3.4 bHLH类转录因子

bHLH家族是植物最大的转录因子家族之一, 在植物的生长发育调控中具有重要作用。其中, RETARDED GROWTH OF EMBRYO1 (*RGE1*)调控种子的大小和发育。拟南芥的*RGE1*功能缺失突变体中, 心形胚期之后胚生长迟缓但形态正常, 胚乳正常发育, 最终产生小而皱的种子(Kondou等2008)。另一项研究表明, *AtZOU*在胚和胚乳间的特殊边界表达, 且*AtZOU*需要与另一个bHLH型转

录因子INDUCER OF CBP EXPRESSION 1 (AtICE1)形成异源二聚体才能发挥转录激活作用(Denay等2014)。玉米的ZmZOU是胚乳特异的bHLH型转录因子,与AtZOU具有相似的功能和作用机制(Grimault等2015)。以上这些研究表明,bHLH型转录因子参与胚和胚乳之间的信号传递。

4 激素相关调控机制

4.1 油菜素内酯

油菜素内酯(brassinosteroids, BRs)是一种类固醇激素,BRs被富含亮氨酸的受体激酶BRASSINOSTEROID INSENSITIVE1 (BRI1)识别后把信号转导给转录因子BRASSINAZOLE-RESISTANT 1 (BZR1)和BZR2,进而调控下游的BR响应基因(Zhu等2013a)。在拟南芥中,BR缺失的突变体*de-etiolated2 (det2)*和BR不敏感的突变体*bri1-5*的种子与野生型的种子相比都小且短。*det2*突变体种子胚胎变小和珠被细胞变短;给*det2*施加外源的BR只能恢复种子表型的一部分,而给野生型施加外源的BR后可以使种子增重,这些结果表明BR正调控种子的大小(Jiang等2013)。以野生型为父本,突变体*det2*、*dwarf4 (dwf4)*或者*bri1-116*为母本产生的杂合体种子大小均与父本种子大小一致,而种子形状则与母本种子形状一致,表明BR通过胚和胚乳的变化影响种子大小,通过珠被的变化影响种子形状。BR可以通过调控其他种子大小相关基因的表达发挥功能。而BZR1可以直接结合*SHB1*、*IKU1*和*IKU2*的启动子,也可以直接结合*AP2*、*ARF2*和*KLU*的启动子(Jiang等2013; Zhu等2013a),表明BR可能通过不同的遗传途径协调胚、胚乳和珠被的生长。

近来在水稻中也发现了BR相关的调控机制。在水稻中,一些BR合成或信号途径基因(如*DWAF2*、*DWAF11*和*BRI1*)的缺失降低了种子的大小和产量。*Carbon Starved Anther (CSA)*编码含MYB结构域的蛋白,水稻中的BRs通过直接启动*CSA*的表达促进花粉和种子的发育(Zhu等2015)。此外,miR397通过靶向参与BR信号转导的漆酶基因调控水稻种子的大小和产量,过量表达miR397使种子增大,促进圆锥花序分支和增加主穗粒数(Zhang等2013)。这一研究揭示了BRs在调控水稻谷粒大小的机制中起重要作用(Morinaka等2006)。

但是目前水稻中这些基因是以母源还是以合子模式调控种子发育的机制还是未知的。

4.2 生长素

生长素能够调控植物生长和发育的多个方面,其中也包括种子的大小。生长素参与种子大小的调控主要是通过*auxin response factors (ARFs)*调控生长素介导的基因表达来实现的(Guilfoyle和Hagen 2007)。ARFs通过结合靶基因启动子区域的生长素反应元件(*auxin-responsive elements, AuxREs*)来调节其转录(Abel和Theologis 1996)。拟南芥含有23个*ARFs*基因,其中*ARF2*被发现可以调节种子的大小(Okushima等2005),*ARF2*通过限制胚珠发育过程中珠被内的细胞增殖来调控种子的大小,同时*ARF2*调控种子大小具有母源效应(Schruff等2006)。

此外,在其他植物中也存在类似*ARF2*的调控机制。例如,在烟草中,*ARFs*基因的表达与*TTG2*调控的发育相关(Zhu等2013b)。在水稻中,激活*Big Grain1 (BGI)*基因的表达,调节生长素的运输,导致种子大幅度增大(Liu等2015)。水稻和小麦中的miR164 (Han等2014; Yi等2013; Peng等2014),玉米、拟南芥和水稻中的miR167 (Kang等2012; Yang等2006; Jones-Rhoades和Bartel 2004)以及油菜中的miR390 (Zhao等2012)都通过小RNA干扰作用影响生长素信号途径,进而影响种子的发育。虽然对生长素的研究已经进行了几十年,但是植物(特别是水稻)中生长素的信号途径及其运输还缺乏深入的研究(Liu等2015)。因此,在水稻中,鉴定新的生长素合成或转运相关基因,将有助于研究生长素调控种子发育的分子机制,并为提高水稻种子产量提供有益的参考。

4.3 细胞分裂素

细胞分裂素是腺嘌呤的衍生物,它在根尖、茎端、萌发中的种子以及发育中的果实和种子中合成。拟南芥组氨酸激酶(*Arabidopsis histidine kinases, AHKs*)是细胞分裂素的受体,拟南芥组氨酸磷酸转移蛋白(*Arabidopsis histidine phosphotransfer proteins, AHPs*)将磷酸基团带入核内后,激活拟南芥响应基因(*Arabidopsis response regulators, ARRs*),进而调控下游基因的表达(Kakimoto 2003)。虽然细胞分裂素受体*AHK2*、*AHK3*和*CRE1/AHK4*

单个基因的突变并不影响种子的大小,但是三突变体*ahk2,3,4*与野生型相比种子明显增大且数目减少(Riefler等2006)。*CYTOKININ INDEPENDENT 1 (CKI1)*编码组氨酸激酶,缺乏AHK2、AHK3和AHK4中的感知细胞分裂素的结构域(Kakimoto 2003)。突变体*cki1*具有大而少的种子;过量表达*CKI1*的植株,在组织培养过程中,无细胞分裂素处理时也可以发生细胞分裂素的响应(Kakimoto 2003)。细胞分裂素缺失突变体和不敏感突变体中,细胞数目增多和胚胎细胞增大使得种子增大,表明细胞分裂素通过调节种子发育过程中胚胎细胞的生长以调控种子大小(Werner等2003; Riefler等2006),但三突变体*ahk2 ahk3 cre1*通过影响珠被的发育导致胚细胞增大,因此细胞分裂素可能是通过合子调控和(或)母源调控的方式来调控种子的大小(Riefler等2006)。

此外,其他植物中也存在细胞分裂素相关的调控种子大小的基因。Ashikari等(2005)发现在水稻中*Gn1a*是一个调控谷粒数量的主效数量性状基因(quantitative trait locus, QTL),它编码的细胞分裂素氧化酶/脱氢酶(cytokinin oxidase/dehydrogenase, OsCKX2)可以催化细胞分裂素的降解。*OsCKX2*突变之后,水稻谷粒增多。Zhao等(2015)发现在草棉(*Gossypium herbaceum*)中通过下调*GhCKX*基因的表达,可以在适度提高细胞分裂素水平的同时,增加纤维和种子的产量。这些研究均表明适度地提高内源细胞分裂素水平是提高作物产量的一个可行且有效的策略。

4.4 赤霉素

受赤霉素调控的一些基因家族参与植物的开花、种子的发育和种子的萌发。其中,拟南芥的*gibberellic acid-stimulated Arabidopsis (GASA)*家族受赤霉素的调控(Herzog等1995),*GASAs*编码富含半胱氨酸结构域的分泌型多肽(Roxrud等2007),该家族含14个成员。其中,*GASA4*基因突变体的种子比野生型小,但是由于突变体分枝更多,种子的总重量依然比野生型多;*GASA4*基因过量表达后,种子的大小和总重量大大提高(Roxrud等2007)。因此,*GASA4*可以调控种子的大小和总产量。*GASA4*的功能说明*GASA*蛋白可能在信号传导途径中起作用,其他*GASA*基因也可能参与种子的发育过程。

5 其他因子

5.1 细胞色素(cytochrome) P450 (CYP450)

CYP450是一类亚铁血红素-硫醇盐蛋白的超家族,是高等植物中最大的酶蛋白家族。其中,*KLU*编码细胞色素P450 CYP78A5 (Anastasiou等2007),正调控种子的大小,胚和胚乳中*KLU*的基因型与种子大小无关,母源组织来源的*KLU*才能促进种子生长(Adamski等2009)。在胚珠发育过程中,*KLU*在内珠被中表达,促进珠被的细胞增殖(Anastasiou等2007)。另外,*dominant enhancer of dal-1 (eod3-1D)*编码P450单加氧酶CYP78A6, *EOD3/CYP78A6*正调控种子的大小。拟南芥的*EOD3/CYP78A6*与*CYP78A9*具有很高的相似性,遗传分析显示*cyp78a9-ko*能够增强*eod3-ko*的表型,说明二者之间存在功能冗余。*eod3-ko cyp78a9-ko*双突变体产生正常胚珠,发育着的种子中珠被细胞伸展受限;*klu*突变体产生小胚珠,发育着的种子中珠被中的细胞增殖受限(Fang等2012),说明在珠被生长过程中,*KLU/CYP78A5*可能调节早期的细胞增殖,而*EOD3/CYP78A6*与*CYP78A9*可能调节后期的细胞增殖。

近来在单子叶植物中也发现了一些参与调控种子大小的CYP450。例如,水稻中的*GIANT EMBRYO (GE)*基因编码OsCYP78A13,它在调控胚和胚乳之间大小平衡的过程中起关键作用(Nagasawa等2013)。最近的研究还表明,水稻中显性突变体*big grain2 (bg2-D)*的颖壳细胞数目增多和细胞体积增大引起谷粒增大(Xu等2015)。玉米中的*ZmGE2*可以调控胚和胚乳的相对体积比(Zhang等2012)。小麦中的*TaCYP78A3*编码细胞色素P450 CYP78A3蛋白, *TaCYP78A3*的活性与种子的大小和数目呈正相关(Ma等2015)。这些研究表明, CYP78A家族蛋白在调控种子大小和器官大小方面起重要作用。然而,这些基因产物的生化功能还需要进一步的研究。

5.2 ESF1家族

植物含有很多富含半胱氨酸的短肽,它们可能作为早期胚胎发生的信号直接或间接地调控种子的发育(Costa等2014)。Costa等(2014)通过鉴定拟南芥种子中富含半胱氨酸的短肽,发现了EMBRYO SURROUNDING FACTOR 1 (ESF1)家族以

一种非细胞自主的方式促进胚柄的伸长。受精前, *ESF1*短肽在配子的中心细胞中积累, 之后在胚周围的胚乳细胞中积累。*ESF1*短肽和receptor-like kinase SHORT SUSPENSOR协同通过YODA mitogen-activated protein kinase (MAPK)途径促进胚柄的伸长。在种子发育早期, *ESF1*是不可缺少的, 而且*ESF1*通过母源的方式调控种子发育。*ESF1*的功能研究为系统探索富含半胱氨酸的多肽家族的功能奠定了基础。

5.3 ABC1激酶

ABC1是最近在植物中发现的一类不规则的激酶(Li等2015)。在水稻中过量表达*ABC1-like kinase related to grain size and weight (OsAGSW1)*基因, 大幅度提高了谷粒的大小、重量和籽粒灌浆速率(Li等2015)。*OsAGSW1*基因的发现为探索ABC1家族在调控种子大小过程中的功能提供了新的线索。

5.4 G蛋白信号途径

异源三聚体的G蛋白能和membrane-bound G-protein-coupled receptors (GPCRs)相互作用, 把信号传导给细胞下游的物质, 进而调控植物的生长发育。异源三聚体的G蛋白复合体由3个单元($G\alpha$ 、 $G\beta$ 和 $G\gamma$)组成(Hamm 1998)。在拟南芥基因组中, 被广泛接受的只有1个 $G\alpha$ (*GPA1*)、1个 $G\beta$ (*AGB1*)和3个 $G\gamma$ (*AGG1*、*AGG2*和*AGG3*) (Li等2012)。拟南芥中G-protein γ subunit 3 (*AGG3*)影响种子和器官的形状及大小, 而且*AGG3*以母源调控方式调控种子的大小。遗传分析显示*AGG3*依赖于*GPA1*和*AGB1*发挥功能, 说明三者可能是以相同的遗传方式调控种子和器官的生长(Chakravorty等2011)。

水稻中也存在参与调控种子大小的G蛋白。其中, *GRAIN SIZE 3 (GS3)*是谷粒长度和重量的一个主效QTL (Mao等2010), 而*DENSE AND ERECT PANICLE 1 (DEP1)*影响圆锥花序的密度、圆锥花序的直立以及花序上谷粒的数目和长度(Huang等2009)。虽然拟南芥*AGG3*与水稻的*GS3*和*DEP1*具有很高的相似度, 拟南芥的*AGG3*正调控种子和器官的生长, 但水稻的*GS3*和*DEP1*负调控种子的大小(Chakravorty等2011), 一种解释是水稻中可能存在一些未知因子通过*GS3*和*DEP1*抑制谷粒的生长,

而拟南芥中则没有同源的因子。水稻的*GS3*和*DEP1*与拟南芥的*AGG3*为什么具有相反的功能, 其作用机制还需要进一步的研究。

5.5 多梳家族蛋白(Polycomb group, PcG)类转录因子

PcG通过转录抑制调控种子发育和细胞增殖。其中的一些PcG蛋白参与调控胚乳的发育, 例如FERTILIZATION-INDEPENDENT SEED 2 (*FIS2*)、FERTILIZATION INDEPENDENT ENDOSPERM (*FIE/FIS3*)、MEDEA (*MEA/FIS1*)、MULTICOPY SUPPRESSOR OF *IRAI* (*MSI1*)四种蛋白能够形成一个多梳抑制复合体(Pien和Grossniklaus 2007), 进而通过甲基化组蛋白H3上第27位赖氨酸($H3K27me3$)抑制下游靶基因的表达(Wang等2006)。在雌配子体中, 正常的FIS复合体在受精之前就开始调节配子体的发育; 在相应的突变体中, 受精前雌配子体中胚乳过度增殖, 受精后胚的生长受到阻碍, 细胞增殖和细胞形态出现不同的缺陷, 胚乳细胞化缺乏(Leroy等2007)。*PHE1*是FIS复合体的一个靶基因, 其受到基因组印记的调控(Köhler等2003, 2005)。此外, 在野生型拟南芥中, 胚乳细胞化开始时, *AGL62*表达水平下降; 而在*fis*突变体中, 种子破裂之前, *AGL62*表达水平一直不变。*AGL62*抑制胚乳细胞化, 而*fis*突变体的表型可能与*AGL62*的表达错误有关, 所以, *AGL62*可能是FIS复合体的另外一个候选靶基因(Kang等2008)。

5.6 miRNAs

miRNA是一类22 nt左右的非编码RNA (Reinhart等2002)。在植物体内, miRNAs能够与目标基因的互补序列结合, 降解目标基因, 进而调控细胞代谢。miRNA参与种子发育的主要途径包括: 脱落酸信号途径、生长素信号途径、BR信号途径、淀粉合成、细胞生长、胚胎发育等。由于Gong等(2015)已经详细综述了miRNA在植物种子发育过程中的作用, 本文将不再做重复介绍。

6 研究展望

植物对种子大小的调控是多方面的, 胚、胚乳和珠被三者的协同生长决定了种子的大小, 三者是如何有序生长而又相互制约的分子机制还有待进一步研究。植物对种子大小的调控是多因子的, 泛素受体蛋白、G蛋白、激素受体等多种蛋白

都参与其中, 这些蛋白之间有些可以相互作用, 有些相互独立, 目前还没有明确的结果证明这些蛋白之间是否具有有效的分工机制。植物对种子大小的调控网络是复杂的, 涉及泛素相关调控机制、G蛋白调控机制和激素相关调控机制等多种分子机制, 这些分子机制之间是如何有机协调起来的, 它们之间是否具有信号的交流, 还有待进一步探索。

目前, 鉴定种子大小调节因子的手段主要包括诱变筛选、QTL定位、全基因组研究等。现代生物技术和系统生物学方法(如转录组、蛋白质组和代谢组的数据分析)也将促进科研人员更快地解析调控种子大小的分子机制。在农业生产中, 实现种子增大是提高单粒种子重量和作物产量的一种有效且风险低的手段, 然而, 种子的大小往往与种子数目的变化呈反比(Jakobsson和Eriksson 2000)。所以, 阐明种子大小和种子数目之间的制约关系也将有利于育种学家利用调控种子大小的机制实现作物增产(Harper等1970; Jakobsson和Eriksson 2000)。

参考文献

- Abel S, Theologis A (1996). Early genes and auxin action. *Plant Physiol*, 111 (1): 9–17
- Adamski NM, Anastasiou E, Eriksson S, O'Neill CM, Lenhard M (2009). Local maternal control of seed size by *KLUH/CYP78A5*-dependent growth signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106 (47): 20115–20120
- Anastasiou E, Kenz S, Gerstung M, MacLean D, Timmer J, Fleck C, Lenhard M (2007). Control of plant organ size by *KLUH/CYP78A5*-dependent intercellular signaling. *Dev Cell*, 13 (6): 843–856
- Ashikari M, Sakakibara H, Lin S, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles ER, Qian Q, Kitano H, Matsuoka M (2005). Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*, 309 (5735): 741–745
- Beeckman T, De Rycke R, Viane R, Inzé D (2000). Histological study of seed coat development in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res*, 113 (1110): 139–148
- Bleckmann A, Alter S, Dresselhaus T (2014). The beginning of a seed: regulatory mechanisms of double fertilization. *Front Plant Sci*, 5: 452
- Chakravorty D, Trusov Y, Zhang W, Acharya BR, Sheahan MB, McCurdy DW, Assmann SM, Botella JR (2011). An atypical heterotrimeric G-protein γ -subunit is involved in guard cell K^+ -channel regulation and morphological development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 67 (5): 840–851
- Chaudhury AM, Koltunow A, Payne T, Luo M, Tucker MR, Dennis ES, Peacock WJ (2001). Control of early seed development. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 17: 677–699
- Chen C, Begcy K, Liu K, Folsom JJ, Wang Z, Zhang C, Walia H (2016). Molecular characterization of rice endosperm development under heat stress identifies *OsMADS87* as a determinant of seed size and thermal sensitivity. *Plant Physiol*, doi: 10.1104/pp.15.01992
- Chen X (2004). A microRNA as a translational repressor of *APETA-LA2* in *Arabidopsis* flower development. *Science*, 303 (5666): 2022–2025
- Costa LM, Marshall E, Tesfaye M, Silverstein KA, Mori M, Umetsu Y, Otterbach SL, Papareddy R, Dickinson HG, Boutiller K, et al (2014). Central cell-derived peptides regulate early embryo patterning in flowering plants. *Science*, 344 (6180): 168–172
- de Folter S, Immink RGH, Kieffer M, Pañnicová L, Henz SR, Weigel D, Busscher M, Kooiker M, Colombo L, Kater MM, et al (2005). Comprehensive interaction map of the *Arabidopsis* MADS Box transcription factors. *Plant Cell*, 17 (5): 1424–1433
- Denay G, Creff A, Moussu S, Wagnon P, Thévenin J, Gérentes MF, Chambrier P, Dubreucq B, Ingram G (2014). Endosperm breakdown in *Arabidopsis* requires heterodimers of the basic helix-loop-helix proteins ZHOUP1 and INDUCER OF CBP EXPRESSION 1. *Development*, 141 (6): 1222–1227
- Disch S, Anastasiou E, Sharma VK, Laux T, Fletcher JC, Lenhard M (2006). The E3 ubiquitin ligase BIG BROTHER controls *Arabidopsis* organ size in a dosage-dependent manner. *Curr Biol*, 16 (3): 272–279
- Du L, Li N, Chen L, Xu Y, Li Y, Zhang Y, Li C, Li Y (2014). The ubiquitin receptor DA1 regulates seed and organ size by modulating the stability of the ubiquitin-specific protease UBP15/SOD2 in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26 (2): 665–677
- Elliott RC, Betzner AS, Huttner E, Oakes MP, Tucker WQJ, Gerentes D, Perez P, Smyth DR (1996). *AINTEGUMENTA*, an *APETA-LA2*-like gene of *Arabidopsis* with pleiotropic roles in ovule development and floral organ growth. *Plant Cell*, 8 (2): 155–168
- Erdmann R, Gramzow L, Melzer R, Theißen G, Becker A (2010). *GORDITA (AGL63)* is a young paralog of the *Arabidopsis thaliana* *B_{sister}* MADS box gene *ABS (TT16)* that has undergone neofunctionalization. *Plant J*, 63 (6): 914–924
- Fang W, Wang Z, Cui R, Li J, Li Y (2012). Maternal control of seed size by *EOD3/CYP78A6* in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 70 (6): 929–939
- Garcia D, Gerald JNF, Berger F (2005). Maternal control of integument cell elongation and zygotic control of endosperm growth are coordinated to determine seed size in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17 (1): 52–60
- Garcia D, Saingery V, Chambrier P, Mayer U, Jürgens G, Berger F (2003). *Arabidopsis haiku* mutants reveal new controls of seed size by endosperm. *Plant Physiol*, 131 (4): 1661–1670
- Gong S, Ding Y, Zhu C (2015). Role of miRNA in plant seed development. *Hereditas*, 37 (6): 554–560 (in Chinese with English abstract) [龚淑敏, 丁艳菲, 朱诚(2015). miRNA在植物种子发育过程中的作用. *遗传*, 37 (6): 554–560]
- Grimault A, Gendrot G, Chamot S, Widiez T, Rabillé H, Gérentes

- MF, Creff A, Thévenin J, Dubreucq B, Ingram GC, et al (2015). ZmZHOUP1, an endosperm-specific basic helix-loop-helix transcription factor involved in maize seed development. *Plant J*, 84 (3): 574–586
- Guilfoyle TJ, Hagen G (2007). Auxin response factors. *Curr Opin Plant Biol*, 10 (5): 453–460
- Haig D (2013). Kin conflict in seed development: an interdependent but fractious collective. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 29: 189–211
- Hamm HE (1998). The many faces of G protein signaling. *J Biol Chem*, 273 (2): 669–672
- Han R, Jian C, Lv Y, Yan Y, Chi Q, Li Z, Wang Q, Zhang J, Liu X, Zhao H (2014). Identification and characterization of microRNAs in the flag leaf and developing seed of wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics*, 15: 289
- Harper JL, Lovell PH, Moore KG (1970). The shapes and sizes of seeds. *Annu Rev Ecol Syst*, 1: 327–356
- Herzog M, Dorne AM, Grellet F (1995). *GASA*, a gibberellin-regulated gene family from *Arabidopsis thaliana* related to the tomato *GAST1* gene. *Plant Mol Biol*, 27 (4): 743–752
- Huang X, Qian Q, Liu Z, Sun H, He S, Luo D, Xia G, Chu C, Li J, Fu X (2009). Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nat Genet*, 41 (4): 494–497
- Jakobsson A, Eriksson O (2000). A comparative study of seed number, seed size, seedling size and recruitment in grassland plants. *Oikos*, 88 (3): 494–502
- Jiang WB, Huang HY, Hu YW, Zhu SW, Wang ZY, Lin WH (2013). Brassinosteroid regulates seed size and shape in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 162 (4): 1965–1977
- Jofuku KD, den Boer BGW, Van Montagu M, Okamoto JK (1994). Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*. *Plant Cell*, 6 (9): 1211–1225
- Jofuku KD, Omidyar PK, Gee Z, Okamoto JK (2005). Control of seed mass and seed yield by the floral homeotic gene *APETALA2*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (8): 3117–3122
- Johnson CS, Kolevski B, Smyth DR (2002). *TRANSPARENT TESTA GLABRA2*, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a WRKY transcription factor. *Plant Cell*, 14 (6): 1359–1375
- Jones-Rhoades MW, Bartel DP (2004). Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Mol Cell*, 14 (6): 787–799
- Kakimoto T (2003). Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 605–627
- Kang IH, Steffen JG, Portereiko MF, Lloyd A, Drews GN (2008). The AGL62 MADS domain protein regulates cellularization during endosperm development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20 (3): 635–647
- Kang M, Zhao Q, Zhu D, Yu J (2012). Characterization of microRNAs expression during maize seed development. *BMC Genomics*, 13: 360
- Kapazoglou A, Engineer C, Drosou V, Kalloniati C, Tani E, Tsaiballa A, Kouri ED, Ganopoulos I, Fletmetakis E, Tsafaris AS (2012). The study of two barley *Type I-like MADS-box* genes as potential targets of epigenetic regulation during seed development. *BMC Plant Biol*, 12: 166
- Köhler C, Hennig L, Spillane C, Pien S, Grissem W, Grossniklaus U (2003). The *Polycomb*-group protein MEDEA regulates seed development by controlling expression of the MADS-box gene *PHERES1*. *Genes Dev*, 17 (12): 1540–1553
- Köhler C, Page DR, Gagliardini V, Grossniklaus U (2005). The *Arabidopsis thaliana* MEDEA Polycomb group protein controls expression of *PHERES1* by parental imprinting. *Nat Genet*, 37 (1): 28–30
- Kondou Y, Nakazawa M, Kawashima M, Ichikawa T, Yoshizumi T, Suzuki K, Ishikawa A, Koshi T, Matsui R, Muto S, et al (2008). RETARDED GROWTH OF EMBRYO1, a new basic helix-loop-helix protein, expresses in endosperm to control embryo growth. *Plant Physiol*, 147 (4): 1924–1935
- Lafon-Placette C, Köhler C (2014). Embryo and endosperm, partners in seed development. *Curr Opin Plant Biol*, 17: 64–69
- Leroy O, Hennig L, Breuninger H, Laux T, Köhler C (2007). Polycomb group proteins function in the female gametophyte to determine seed development in plants. *Development*, 134 (20): 3639–3648
- Li Q, Li L, Yang X, Warburton ML, Bai G, Dai J, Li J, Yan J (2010). Relationship, evolutionary fate and function of two maize co-orthologs of rice *GW2* associated with kernel size and weight. *BMC Plant Biol*, 10: 143
- Li S, Liu Y, Zheng L, Chen L, Li N, Corke F, Lu Y, Fu X, Zhu Z, Bevan MW, et al (2012). The plant-specific G protein γ subunit AGG3 influences organ size and shape in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 194 (3): 690–703
- Li T, Jiang J, Zhang S, Shu H, Wang Y, Lai J, Du J, Yang C (2015). *OsAGSW1*, an ABC1-like kinase gene, is involved in the regulation of grain size and weight in rice. *J Exp Bot*, 66 (19): 5691–5701
- Li YH, Zheng LY, Corke F, Smith C, Bevan MW (2008). Control of final seed and organ size by the *DA1* gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev*, 22 (10): 1331–1336
- Liu L, Tong H, Xiao Y, Che R, Xu F, Hu B, Liang C, Chu J, Li J, Chu C (2015). Activation of *Big Grain1* significantly improves grain size by regulating auxin transport in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (35): 11102–11107
- Liu YF, Wang F, Zhang H, He H, Ma L, Deng XW (2008). Functional characterization of the *Arabidopsis ubiquitin-specific protease* gene family reveals specific role and redundancy of individual members in development. *Plant J*, 55 (5): 844–856
- Luo M, Dennis ES, Berger F, Peacock WJ, Chaudhury A (2005). *MINISEED3 (MINI3)*, a *WRKY* family gene, and *HAIKU2 (IKU2)*, a leucine-rich repeat (*LRR*) *KINASE* gene, are regulators of seed size in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (48): 17531–17536
- Ma M, Wang Q, Li Z, Cheng H, Li Z, Liu X, Song W, Appels R, Zhao H (2015). Expression of *TaCYP78A3*, a gene encoding cytochrome P450 CYP78A3 protein in wheat (*Triticum aestivum* L.), affects seed size. *Plant J*, 83 (2): 312–325
- Mao H, Sun S, Yao J, Wang C, Yu S, Xu C, Li X, Zhang Q (2010). Linking differential domain functions of the GS3 protein to nat-

- ural variation of grain size in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (45): 19579–19584
- Mizukami Y, Fischer RL (2000). Plant organ size control: *AINTEGUMENTA* regulates growth and cell numbers during organogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 (2): 942–947
- Moles AT, Ackerly DD, Webb CO, Tweddle JC, Dickie JB, Westoby M (2005). A brief history of seed size. *Science*, 307 (5709): 576–580
- Morinaka Y, Sakamoto T, Inukai Y, Agetsuma M, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M (2006). Morphological alteration caused by brassinosteroid insensitivity increases the biomass and grain production of rice. *Plant Physiol*, 141 (3): 924–931
- Nagasawa N, Hibara KI, Heppard EP, Vander Velden KA, Luck S, Beatty M, Nagato Y, Sakai H (2013). *GIANT EMBRYO* encodes CYP78A13, required for proper size balance between embryo and endosperm in rice. *Plant J*, 75 (4): 592–605
- Nayar S, Sharma R, Tyagi AK, Kapoor S (2013). Functional delineation of rice *MADS29* reveals its role in embryo and endosperm development by affecting hormone homeostasis. *J Exp Bot*, 64 (14): 4239–4253
- Nesi N, Debeaujon I, Jond C, Stewart AJ, Jenkins GI, Caboche M, Lepiniec L (2002). The *TRANSPARENT TESTA16* locus encodes the ARABIDOPSIS BSISTER MADS domain protein and is required for proper development and pigmentation of the seed coat. *Plant Cell*, 14 (10): 2463–2479
- Ohto MA, Fischer RL, Goldberg RB, Nakamura K, Harada JJ (2005). Control of seed mass by *APETALA2*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (8): 3123–3128
- Okushima Y, Overvoorde PJ, Arima K, Alonso JM, Chan A, Chang C, Ecker JR, Hughes B, Lui A, Nguyen D, et al (2005). Functional genomic analysis of the *AUXIN RESPONSE FACTOR* gene family members in *Arabidopsis thaliana*: unique and overlapping functions of *ARF7* and *ARF19*. *Plant Cell*, 17 (2): 444–463
- Peng T, Sun H, Qiao M, Zhao Y, Du Y, Zhang J, Li J, Tang G, Zhao Q (2014). Differentially expressed microRNA cohorts in seed development may contribute to poor grain filling of inferior spikelets in rice. *BMC Plant Biol*, 14: 196
- Peng Y, Chen L, Lu Y, Wu Y, Dumenil J, Zhu Z, Bevan MW, Li Y (2015). The ubiquitin receptors DA1, DAR1, and DAR2 redundantly regulate endoreduplication by modulating the stability of TCP14/15 in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 27 (3): 649–662
- Pien S, Grossniklaus U (2007). *Polycomb* group and *trithorax* group proteins in *Arabidopsis*. *Biochim Biophys Acta*, 1769 (5–6): 375–382
- Portereiko MF, Lloyd A, Steffen JG, Punwani JA, Otsuga D, Drews GN (2006). *AGL80* is required for central cell and endosperm development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 18 (8): 1862–1872
- Prasad K, Zhang X, Tobón E, Ambrose BA (2010). The *Arabidopsis* B-sister MADS-box protein, GORDITA, represses fruit growth and contributes to integument development. *Plant J*, 62 (2): 203–214
- Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP (2002). MicroRNAs in plants. *Genes Dev*, 16 (13): 1616–1626
- Riefler M, Novak O, Strnad M, Schmülling T (2006). *Arabidopsis* cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant Cell*, 18 (1): 40–54
- Roxrud I, Lid SE, Fletcher JC, Schmidt EDL, Opsahl-Sorteberg HG (2007). GASA4, one of the 14-member *Arabidopsis* GASA family of small polypeptides, regulates flowering and seed development. *Plant Cell Physiol*, 48 (3): 471–483
- Schruff MC, Spielman M, Tiwari S, Adams S, Fenby N, Scott RJ (2006). The *AUXIN RESPONSE FACTOR 2* gene of *Arabidopsis* links auxin signalling, cell division, and the size of seeds and other organs. *Development*, 133 (2): 251–261
- Song XJ, Huang W, Shi M, Zhu MZ, Lin HX (2007). A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nat Genet*, 39 (5): 623–630
- Steffen JG, Kang IH, Portereiko MF, Lloyd A, Drews GN (2008). AGL61 interacts with AGL80 and is required for central cell development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 148 (1): 259–268
- Su Z, Hao C, Wang L, Dong Y, Zhang X (2011). Identification and development of a functional marker of *TaGW2* associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 122 (1): 211–223
- Sun X, Shantharaj D, Kang X, Ni M (2010). Transcriptional and hormonal signaling control of *Arabidopsis* seed development. *Curr Opin Plant Biol*, 13 (5): 611–620
- Sundaresan V (2005). Control of seed size in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (50): 17887–17888
- Verma R, Oania R, Graumann J, Deshaies RJ (2004). Multiubiquitin chain receptors define a layer of substrate selectivity in the ubiquitin-proteasome system. *Cell*, 118 (1): 99–110
- Wang A, Garcia D, Zhang H, Feng K, Chaudhury A, Berger F, Peacock WJ, Dennis ES, Luo M (2010). The VQ motif protein IKU1 regulates endosperm growth and seed size in *Arabidopsis*. *Plant J*, 63 (4): 670–679
- Wang D, Tyson MD, Jackson SS, Yadegari R (2006). Partially redundant functions of two SET-domain polycomb-group proteins in controlling initiation of seed development in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (35): 13244–13249
- Werner T, Motyka V, Laucou V, Smets R, Van Onckelen H, Schmülling T (2003). Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell*, 15 (11): 2532–2550
- Xia T, Li N, Dumenil J, Li J, Kamenski A, Bevan MW, Gao F, Li Y (2013). The ubiquitin receptor DA1 interacts with the E3 ubiquitin ligase DA2 to regulate seed and organ size in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25 (9): 3347–3359
- Xiao YG, Sun QB, Kang XJ, Chen CB, Ni M (2016). *SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE1* or *HAIKU2* mixexpression alters canola and *Arabidopsis* seed development. *New Phytol*, 209 (2): 636–649
- Xu F, Fang J, Ou S, Gao S, Zhang F, Du L, Xiao Y, Wang H, Sun X, Chu J, et al (2015). Variations in *CYP78A13* coding region influence grain size and yield in rice. *Plant Cell Environ*, 38 (4): 800–811

- Yan DW, Zhou Y, Ye SH, Zeng LJ, Zhang XM, He ZH (2013). *BEAK-SHAPED GRAIN 1/TRIANGULAR HULL 1*, a DUF640 gene, is associated with grain shape, size and weight in rice. *Sci China Life Sci*, 56 (3): 275–283
- Yang JH, Han SJ, Yoon EK, Lee WS (2006). Evidence of an auxin signal pathway, microRNA167-ARF8-GH3, and its response to exogenous auxin in cultured rice cells. *Nucleic Acids Res*, 34 (6): 1892–1899
- Yang X, Wu F, Lin X, Du X, Chong K, Gramzow L, Schilling S, Becker A, Theißen G, Meng Z (2012). Live and let die - the *B_{sister}* MADS-box gene *OsMADS29* controls the degeneration of cells in maternal tissues during seed development of rice (*Oryza sativa*). *PLoS ONE*, 7 (12): e51435
- Yi R, Zhu Z, Hu J, Qian Q, Dai J, Ding Y (2013). Identification and expression analysis of microRNAs at the grain filling stage in rice (*Oryza sativa* L.) via deep sequencing. *PLoS ONE*, 8 (3): e57863
- Yin LL, Xue HW (2012). The *MADS29* transcription factor regulates the degradation of the nucellus and the nucellar projection during rice seed development. *Plant Cell*, 24 (3): 1049–1065
- Zhang P, Allen WB, Nagasawa N, Ching AS, Heppard EP, Li H, Hao X, Li X, Yang X, Yan J, et al (2012). A transposable element insertion within *ZmGE2* gene is associated with increase in embryo to endosperm ratio in maize. *Theor Appl Genet*, 125 (7): 1463–1471
- Zhang Y, Du L, Xu R, Cui R, Hao J, Sun C, Li Y (2015). Transcription factors SOD7/NGAL2 and DPA4/NGAL3 act redundantly to regulate seed size by directly repressing *KLU* expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 27 (3): 620–632
- Zhang YC, Yu Y, Wang CY, Li ZY, Liu Q, Xu J, Liao JY, Wang XJ, Qu LH, Chen F, et al (2013). Overexpression of microRNA Os-miR397 improves rice yield by increasing grain size and promoting panicle branching. *Nat Biotechnol*, 31 (9): 848–852
- Zhao J, Bai W, Zeng Q, Song S, Zhang M, Li X, Hou L, Xiao Y, Luo M, Li D, et al (2015). Moderately enhancing cytokinin level by down-regulation of *GhCKX* expression in cotton concurrently increases fiber and seed yield. *Mol Breed*, 35: 60
- Zhao YT, Wang M, Fu SX, Yang WC, Qi CK, Wang XJ (2012). Small RNA profiling in two *Brassica napus* cultivars identifies microRNAs with oil production- and development-correlated expression and new small RNA classes. *Plant Physiol*, 158 (2): 813–823
- Zhou Y, Zhang X, Kang X, Zhao X, Zhang X, Ni M (2009). SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE1 associates with *MINISEED3* and *HAIKU2* promoters in vivo to regulate *Arabidopsis* seed development. *Plant Cell*, 21 (1): 106–117
- Zhu JY, Sae-Seaw J, Wang ZY (2013a). Brassinosteroid signalling. *Development*, 140 (8): 1615–1620
- Zhu Q, Li B, Mu S, Han B, Cui R, Xu M, You Z, Dong H (2013b). TTG2-regulated development is related to expression of putative AUXIN RESPONSE FACTOR genes in tobacco. *BMC Genomics*, 14: 806
- Zhu X, Liang W, Cui X, Chen M, Yin C, Luo Z, Zhu J, Lucas WJ, Wang Z, Zhang D (2015). Brassinosteroids promote development of rice pollen grains and seeds by triggering expression of Carbon Starved Anther, a MYB domain protein. *Plant J*, 82 (4): 570–581

Advances in the regulation mechanism of plant seed size

ZHANG Xue-Jing^{1,2}, JIANG Wen-Bo¹, PANG Yong-Zhen^{1*}

¹Key Laboratory of Plant Resources / Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Seed size is one of the major traits in plants, which also plays a key role in crop yield. In recent years, many advances have been made in the understanding of the molecular mechanisms underlying seed size regulation, and many different genes have been identified to be involved in the regulation of seed size. These advances on the regulation of seed size provide valuable theoretical references in crop breeding, which could also be applied in the enhancement of crop yield. By taking model plants *Arabidopsis* and rice as examples, we summarized the molecular mechanisms of ubiquitins, transcription factors and hormones on the regulation of seed size. We expect to provide valuable reference to researcher in the related field.

Key words: seed size; seed development; regulatory genes

Received 2016-04-11 Accepted 2016-06-21

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31370335), the Major State Basic Research Development Program (Grant No. 2013CB127002), and the “Hundred Talents Program” of the Chinese Academy of Sciences (Grant No. 39391503-7).

*Corresponding author (E-mail: yzhpang@ibcas.ac.cn).