

文章编号: 1004-0374(2010)11-1177-07

· 评论与综述 ·

黄瓜性型分化的分子机制

梁永宏, 李广林*, 郭 韬, 魏 强

(陕西师范大学生命科学院, 西安 710062)

摘 要: 黄瓜(*Cucumis sativus*)是雌雄异花植物性型分化研究的重要模式植物, 近年来虽然其性型分化的分子机制研究取得了一定的成果, 但其性型分化的调控机制尚未完全阐明。该文综合花器官发育基因、性别决定基因、内源激素、环境因子、性型分化假说, 在分子水平构建了黄瓜性型分化的表达调控网络。同时对激素和性别决定基因协控的黄瓜单性花器官凋亡机制进行了阐述, 并就 miRNA 在黄瓜性型分化调控中的作用进行了探讨。

关键词: 黄瓜; 性型分化; 内源激素; 性型分化假说; miRNA

中图分类号: Q949. 782

文献标识码 A

The molecular mechanism of sexual differentiation in cucumber (*Cucumis sativus* L.)

LIANG Yong-hong, LI Guang-lin*, GUO tao, WEI Qiang

(College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: Cucumber is a model in the study of unisexual flower development. Recently, although the study of sexual differentiation in cucumber had made some progress, the regulation mechanism of its sexual differentiation has not yet been fully clarified. The expressional regulation network of sexual differentiation in cucumber was set up completely at the molecular level by combinatng the floral organ developmental genes, sex determination gene, endogenous hormones, environmental factors and sexual differentiation hypothesis in the paper. At the same time, the apoptosis mechanism of unisexual flower organ, which was about the interaction between hormones and sex determination gene was illustrated in the process of cucumber sexual differentiation, also the function of miRNA in the regulation of cucumber's sexual differentiation has been discussed.

Key words: cucumber; sexual differentiation; endogenous hormones; sexual differentiation hypothesis; miRNA

自然界中高等植物性型分化的多样性和特异性是自然选择和物种繁衍的结果, 也是供人们对花器官发育研究的天然试验系统。对其研究不仅可以丰富人们对植物花发育机理的认识, 而且有利于进一步探索植物尤其是经济作物最终性别与产量之间的关系。黄瓜(*Cucumis sativus*)作为葫芦科(Cucurbitaceae)的一种主要蔬菜作物, 其性别类型是复杂多样的。依雌花、雄花、两性花的不同组合, 可以将黄瓜植株划分为纯雌株(Gynoeocious)、强雌株(Subgynoeocious)、雌全株(Gynoeocious)、雌雄全株(Coenomonoecious)、雌雄株(Monoecious)、完全株(Hermaphroditic)、雄全株(Andromonoecious)、纯

雄株(Androeocious)等八种性别类型。因此, 在20世纪50年代末就将黄瓜确定为性型分化研究的模式植物^[1-3]。黄瓜如此多样的性别不仅受控于基因和内源激素, 还受环境的影响, 其作用机制十分复杂, 目前尚未完全阐明^[3]。近年来, 随着黄瓜和甜瓜(*C. melo* L)中4个性别决定基因的相继克隆, 以及黄瓜

收稿日期: 2010-05-22; 修回日期: 2010-06-28

基金项目: 中央高校基本科研业务费资助项目(GK200902036); 西安市科技攻关项目(NC09041); 校级优秀科技预研项目(200802010)

*通讯作者 Tel:13992856645 E-mail: gli@snnu.edu.cn

全基因组测序的完成, 黄瓜性型分化的研究进入了一个新的阶段, 目前黄瓜性型分化的研究已经成为植物科学家的关注焦点^[4]。因此, 本文综合花发育基因、性别决定基因、内源激素、性型分化相关假说等方面所取得最新进展, 并就 miRNA 在黄瓜性型分化中可能存在的潜在机制加以讨论。

1 花发育基因与黄瓜性型分化

黄瓜性别分化成熟后一般为雌雄异花同株类型, 在未分化以及花蕊原基时期, 雌蕊和雄蕊原基都存在, 没有明显的第二特征, 性别类型很难确定^[5]。在花芽发育的过程中, 两性花蕊原基(包括雌蕊和雄蕊原基)在基因的调控作用下, 将分化成不同性别类型的花, 包括雄花、雌花或两性花^[5]。因此, 黄瓜的性型决定是一个“特殊”的花器官“后”决定过程, 花的发育过程是黄瓜性型分化过程的重要阶段。

1.1 花发育基因研究背景

植物花发育是性型分化的一个重要阶段, 植物生殖发育学家Coen和Meyerowitz^[6]很早就将目标集中在花的发育相关基因上来, 并提出了著名的ABC模型。后来在 *SEP* 家族基因研究的基础上, ABC模型又被扩展为ABCE模型^[7]。与ABCE模型关系密切的MADS-box是一类广泛存在于植物中的多基因家族, 该家族中多数基因参与花器官发育早期性别决定过程, 因此被作为植物性别发育主要的候选基因而倍受关注^[8]。除了A类基因中的 *AP2* 以外, ABCE模型中的A类基因 *AP1*、B类基因 *AP3*、C类基因 *AG*、E类基因 *SEP* 等多个基因都属于MADS-box家族^[9]。但是, *AP2* 基因被发现具有双重作用, 既可以调控萼片的形成, 又可以抑制 *AG* 等基因的作用, 且与一类转录因子 EREBP-9 关系密切, 引起了人们的普遍关注^[10]。目前, 在包括玉米在内的多个物种研究中已经鉴定出ABCE模型与植物花发育和性型分化相关。

1.2 花发育基因与黄瓜性型分化

有人提出ABCE模型基因与黄瓜性型分化关系不大, 但这一结论未必正确。Perl-Treves等^[11]从黄瓜中分离、克隆了三个 *AG* 亚族基因 *CAG1*、*CAG2*、*CAG3*, 其中 *CAG2* 是子房特异克隆, 只在雌花子房中特异性表达。Filipecki等^[12]从黄瓜愈伤组织 cDNA 文库中分离到 *CUS1*, 发现其与雌蕊子房发育有关。Kater等^[13]先分离克隆了2个 *AG* 同源基因 *CUM1* 和 *CUM10*, 其中 *CUM1* 与 *CAG3* 等同,

CUM10 与 *CAG1* 等同, 后来又发现了 *CUM26*, 并认为其影响花瓣和雄蕊的发育。Ando等^[14]采用乙烯诱导及 mRNA 差异显示 PCR 技术, 分离并克隆了一个受乙烯诱导且与雌性发育有关的 cDNA, 命名为 *ERAF17*。更为重要的是, 转录因子 EREBP-9 第一次被 Wu 等^[10]发现, 并认为特异性的表达于黄瓜花的胚珠。因此, 目前还没有足够理由说明ABCE模型基因与黄瓜性别决定关系不大。

2 性别决定基因与黄瓜性型分化

植物性型决定过程涉及多种机制, 而“单一基因位点控制非完全花的发育”为葫芦科植物所特有, 其中以黄瓜和甜瓜研究最深入^[15]。目前已发现并定名的黄瓜性别决定基因主要有7种, 如表1所示, 其中关键的4种基因为 *F*、*M*、*a* 和 *Tr*; 而 *gy*、*In-F*、*m-2* 等主要起背景修饰作用^[16]。

2.1 *F/f* 基因化学实质已经阐明

F 是部分显性基因, 其主要功能是加强雌性化, 即改变雌性表达模式, 使雌花向低结位发育, 其表达还受到基因 *gy*、*In-F* 的修饰作用^[16]。在遗传学上, 当植株基因型为 *F_M_A_* 时, 表现为雌性型; *ffM_A_* 时, 表现为雌雄异花同株^[15]。

在分子水平, *F* 基因已经得到较为清楚的阐述。Trebitsh等^[17]首先部分克隆 *F* 基因, 并发现其与 *Cs-ACSIG* (黄瓜 1-氨基环丙烷-1-羧酸合成酶 1G, *Cucumis sativus* 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthetic enzyme 1G) 基因紧密连锁, 后来 *F* 基因的克隆又相继被 Kamachi 等^[18]、叶等^[16], 以及 Mibus 和 Tatlioglu^[19] 获得。那么, *F/f* 基因和 *Cs-ACSI* 基因之间, *Cs-ACSI* 基因和 *Cs-ACSIG* 基因之间到底是什么关系呢? Mibus 和 Tatlioglu^[19] 分离了 *F/f* 基因后发现: *Cs-ACSIG* (NCBI 基因序列号: U59813) 和 *Cs-ACSI* 主要的区别在启动子序列, 并构建了1个可以准确地区分 *ff* 植株与 *F_* 植株的 SCAR 标记。后来 Knopf 和 Trebitsh^[20] 通过对 *F* 基因的完整克隆和共分离分析进行了实验验证。结果表明, *F* 基因为编码乙烯合成途径中的 ACC (1-氨基环丙烷-1-羧酸, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) 合酶, *F* 位点即 *Cs-ACSIG* 位点, 其化学实质与 *Cs-ACSIG* 相同, 这 and 前人所预测的功能相符^[20]。所以, 黄瓜雌雄同株 (*ff*) 是由单一位点的 *Cs-ACSI* 来控制, 而纯雌株 (*FF*) 是由同一 *F* 位点的 *Cs-ACSIG* 来控制^[15]。然而, *F* 基因的克隆并没有解决黄瓜性型分化的特异性。

表1 黄瓜性别决定基因

类型	基因	异名	特 征	化学实质
主控基因	<i>F/f</i>	<i>Aer/aer^F/D/s</i>	<i>F</i> 表现为雌性高度表达, <i>f</i> 表现为雌雄同株, 与 <i>a</i> 基因和 <i>M</i> 基因 交互, 强烈地被环境条件和微控基因所修饰	<i>F:Cs-ACS1G</i> ; <i>f:Cs-ACS1</i>
	<i>M/m</i>	<i>a/g</i>	<i>M</i> 表现为单性花, 通常为雄花; <i>m</i> 表现为两性花	<i>M:Cs-ACS2</i>
	<i>A/a</i>	-	<i>A</i> 表现为雄性加强, <i>a</i> 通常为雌雄同株。 <i>A</i> 上位于 <i>F</i> 基因, 如果 <i>F</i> 为隐性时主要确定雄花的产生	未知
	<i>Tr</i>	-	表现 3 种花性, 顺序是先开雄花, 再开两性花, 最后开雌性花	未知
微控基因	<i>gy</i>	<i>g</i>	全雌, 高度雌性表达的隐性基因	未知
	<i>In-F</i>	<i>F</i>	雌性表达的增强子, 增强 <i>F</i> 基因的植株的雌性表达	未知
	<i>m-2</i>	<i>h</i>	雄花两性花株基因, 两性花具有正常子房	未知

2.2 *M/m* 基因化学实质已经阐明

Yamasaki 等^[21]首先表明 *M* 位点介导了乙烯诱导的雄蕊滞育, 并认为 *M* 基因主要决定黄瓜单性花的结构, 其等位基因 *m* 主要决定两性花的结构, 两者不影响花在植株上的分布和排列。植株基因型为 *mmff* 时表现雄花、两性花株; *MMff* 为雌雄同株; *MMFF* 为全雌株; *mMFF* 为两性花株。*M* 基因还具有一因多效作用, *MM* 基因型常常只在雌花节位上着生一朵雌花, 而 *mm* 基因型在同节内着生大小不等多个椭圆形两性花, 此外, *m* 等位基因可能增加趋雄性, 如在 *mmFF* 基因型植株的基部可出现一小段雄花节^[22]。

在分子水平, *M* 基因的图位克隆是在 5 个实验室的先后合作努力下才完成的。Li 等^[23]和 Liu 等^[24]用 SCAR 标记曾把 *M* 基因从 6.1CM 定位到 2.1CM 单位内, 然而, 这并不能达到克隆 *M* 基因的目的。最终, Li 等^[22]和 Boualem 等^[25]的实验完整克隆了 *M* 基因, 并证实当编码 *Cs-ACS2* 蛋白的 Gly 突变为 Cys 时, 导致 ACC 合酶活性降低, 引起 *M* 和 *m* 编码的蛋白质也发生了变化, 证明 *M* 基因就是 *Cs-ACS2*, 并和 *F* 基因共同被归类于 ACC 合酶基因家族。然而, *Cs-ACS2* 基因的表达是否与 *M* 基因具有类似的可被乙烯诱导的现象? 陶倩怡等^[15]的实验证明内源乙烯可以诱导 *Cs-ACS2* 基因的表达, 这说明 *M* 基因通过调控下游信号转导途径来诱导黄瓜单性花的形成。至此, *M* 基因的化学实质也得到了阐释和证明。

2.3 *A/a* 和 *Tr* 基因化学实质有待研究

早在 20 世纪 60 年代, Kubicki^[26]就对 *A/a* 和 *Tr* 进行了研究。Kubicki 认为, *A* 基因可增加雄性, *A* 基因上位于 *F* 基因。基因型 *ffmmA_*、*F_mmA_* 和 *F_mmaa* 为雌雄同株型, 基因型 *ffM_mmaa* 为纯雄株。*Tr* 基因属共显性基因, 同 *M* 基因作用机理

相反, 可使黄瓜由单性花变成两性花。该基因只影响雄花芽发育, 释放雄花芽中明显滞育的子房, 使其形成两性花, 导致植株产生雄花、雌花和两性花 3 种类型。至今, 关于基因 *A/a* 和 *Tr* 的研究报道相对较少, *A/a* 和 *Tr* 基因的图位克隆及化学实质尚未见报道。

3 内源激素与黄瓜性型分化

3.1 乙烯与黄瓜性型分化

乙烯作为黄瓜的主要内源激素, 很早以前就被认为是很好的雌性诱导剂。

3.1.1 乙烯合成途径

乙烯合成途径目前已发现的关键酶有 S-腺苷-Met 合成酶 (SAM synthase)、ACC 合成酶 (ACS) 和 ACC 氧化酶 (ACO) 等三个蛋白酶, 以及一个乙烯合成酶受体因子 (ReACS)^[27]。ACS 作为该合成途径的关键调控酶由多基因家族编码, 在黄瓜中已经发现并分离的该家族成员有 *Cs-ACS1*、*Cs-ACS2*、*Cs-ACS3* 和 *Cs-ACS4*^[28]。笔者对 *Cs-ACS* 家族 4 条已获得的蛋白质序列通过 EBI 提供的在线多序列比对工具 ClustalW2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>) 分析后发现, 该家族成员在进化上表现出很高的保守性 (图 1)。最近, 陶倩怡等^[15]利用 AgNO₃ 和艾维激素 (AVG) 处理黄瓜单性花 *M* 决定的近等位基因系后发现, 可能存在一种乙烯诱导的正反馈激活机制, 通过这种机制, 内源乙烯可以诱导 *Cs-ACS2* 基因在雌株中高表达, 而这种内源乙烯可能来源于 *Cs-ACS1G* 基因 (*F* 基因) 或 *Cs-ACS2* 基因 (*M* 基因) 所参与的合成。但是, 他们并没有阐明正反馈机制是如何来影响黄瓜性型分化的。

3.1.2 乙烯信号途径

目前, 乙烯信号转导途径在拟南芥 (*Arabidopsis*)

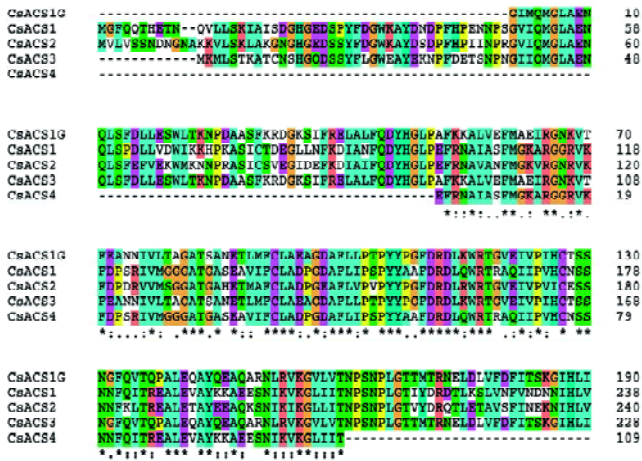


图 1 黄瓜 ACS 家族基因的多序列比对

星号：完全一致位点；冒号：十分保守位点；点：较为保守位点。材料来源：Cs-ACS1G (NCBI 序列登录号 AAB63260)、Cs-ACS1 (NCBI 序列登录号 BAA93714)、Cs-ACS2 (NCBI 序列登录号 BAA33375)、Cs-ACS3 (NCBI 序列登录号 BAA33376)、Cs-ACS4 (NCBI 序列登录号 BAF79595，由于 Cs-ACS4 序列不全，所以只展示了多序列比对的部分结果)

thaliana) 中已经获得较为清楚的阐释^[29]。Yamasaki 等^[30]报道，在黄瓜中 *Cs-ETR1*、*Cs-ETR2*、*Cs-ERS*、*Cs-CTR*、*Cs-EIN3*、*Cs-EIL1*、*Cs-EIL2*、*Cs-ERF1*、*Cs-EREBP* 等受体基因已经被发现并克隆，并认为它们在雌性系黄瓜中高表达。最近，Huang 等^[4]又在黄瓜的乙烯调控途径中预测出 137 个成员 (表 2)，目前 *Cs-ACS* 家族的 4 个新成员以及 *ERF (AP2-ERF)* 家族中的大部分成员的功能尚未被挖掘和报道。

3.2 其他激素与黄瓜性型分化

植物激素与葫芦科植物的性型分化有着千丝万缕的关系，在黄瓜中尤为突出。从生理学角度，研究已经证明，生长素 (IAA/AUX)、萘乙酸 (NAA)、玉米素 (ZT)、脱落酸 (ABA)、多胺 (polyamines)、油菜素内酯 (BR) 等具有黄瓜的促雌性化作用，而赤霉素 (GA) 具有黄瓜的促雄性化作用，并且内源生长素 (IAA/AUX) 的促雌性化作用是通过调控乙烯的生物合成，即增加 *Cs-ACS* 基因的表达来实现，脱落酸的

促雌性化作用是通过抑制赤霉素的作用而实现的^[31-33]。

在分子水平上，Wu 等^[10]对黄瓜雌雄同株系 (*CSg-G*) 和雌株系 (*CSg-M*) 研究证实，从花芽中分离并鉴定出三类与激素和黄瓜性别分化有关的基因，其中脱落酸合成途径中基因 *CS-Asr1* 可以在黄瓜性别分化晚期促进雌花发育；在生长素诱导途径中两个基因 *Cs-IAA2* 和 *CS-AUX1* 中，*Cs-IAA2* 被发现通过促进乙烯的活性而参与性别分化；与油菜素内酯活性有关的基因 *TLP* 被发现可能与乙烯和油菜素内酯的相互作用有关。这些结果首次暗示了乙烯可能与这些激素存在交互作用。

4 环境因子与黄瓜性型分化

许多环境因子都强烈影响黄瓜性型分化，尤其是温度和光周期，在生产实践方面显得最为突出。低温、短日照 (8~10 h)、较高空气湿度、富含氮源、高浓度乙烯、高浓度生长素及其类似物、高浓度 CO₂ 气体等有利于雌性花的发育；高温、长日照 (16 h)、较低空气湿度、匮乏氮源、低浓度乙烯、低浓度生长素及其类似物、低浓度 CO₂ 气体等有利于雌性花的发育^[24, 28, 34, 35]。Yamasaki 等^[28]认为，外源乙烯的促雌作用是通过增加 *M* 位点基因 *Cs-ACS2* 的表达来实现的。由此看出，黄瓜性型分化的过程受很多因素的影响，这给黄瓜植株优良品系的选育带来很大困难，所以在今后的研究中一定要综合考虑影响黄瓜性型分化的因素，为黄瓜育种打下坚实的理论基础。

5 黄瓜性型分化假说

5.1 黄瓜性型分化假说的研究进展

Yin 和 Quinn^[35]1995 年从黄瓜发育的生理学角度提出“单一激素控制黄瓜花型表现假说”，即乙烯的性别控制论。该假说认为乙烯是起主导作用和直接作用的“性激素”，*F* 基因决定乙烯在植株上的分布和乙烯的生成量，赤霉素为其负上游调控因子，并且乙烯具有双重调节作用，雌蕊和雄蕊对乙烯具有不同的敏感阈值。Yamasaki 等^[21]2001 年从

表 2 乙烯合成和信号途径已发现的基因数量^[4]

基因	<i>SAM synthase</i>	<i>ACO</i>	<i>ACS</i>	<i>ReACS</i>	<i>ETR</i>	<i>CTR1</i>	<i>EIN2</i>	<i>EIN3</i>	<i>ERF (AP2-ERF)</i>	总数
数量	4	4	8	2	3	1	1	4	110	137

SAM synthase: S-腺苷-Met 合成酶; *ACO*: 乙烯氧化酶; *ACS*: 乙烯合成酶; *ReACS*: 乙烯合成酶调节因子; *ETR*: 多重反应元件, 负调节因子; *CTR1*: 组成性三重反应因子; *EIN*: 乙烯不敏感因子; *ERF (AP2-ERF)*: 与 *AP2* 相关的乙烯反应因子

遗传决定的角度建立了“*F*、*M* 位点互作假说”认为, *F* 基因控制花芽中乙烯的生成, *f* 基因不影响乙烯的生成; *M* 基因通过调节乙烯信号的转导和表达过程抑制雄蕊的发育, 但不影响乙烯对雌蕊发育的诱导作用, 且 *M* 基因上位于 *F* 基因。所以, Yamasaki 等^[21]认为是 *F* 基因启动了乙烯的促雌作用。

5.2 黄瓜性型分化假说的新突破

最近研究者从形态学和分子生物学角度, 对乙烯的调控作用研究有了新的突破。Hao 等^[36]2003 年首次发现黄瓜性型分化过程中存在器官特异性的 DNA 损伤现象, 接着 Bai 等^[5]发现黄瓜雌花中雄蕊的败育发生在花药和花丝分化的时期, 并伴随着 *CUM1* 基因表达的下调, 并且还发现, 基因 *Cs-ACS2* 的表达量在雌蕊原基形成时期较高, 并且可能导致雄蕊的败育。最近, Wang 等^[37]进一步发现, 在黄瓜花发育的第六阶段, 由于乙烯信号途径中的受体基因 *CsETR1* 的表达下调使花药原基特异性 DNA 损伤, 导致了花药原基细胞的死亡。他们利用 AP3 启动子构建了一个转基因拟南芥植株, 通过反义表达 *CsETR1* 因子, 证明了乙烯感知能力导致花器官部分凋亡对黄瓜雌性化作用的正确性。但是 Yamasaki 等^[38]却发现是由 *Cs1-MMP* 介导单性花器官原基程序性凋亡, 目前, 研究还没有定论。但是, 从花器官凋亡的研究角度, 直观地解释了乙烯气体是怎样有选择地促进黄瓜雌雄异花同株中雌花的发育这一近半个世纪以来的难题。因此, 综合各个角度的成果, 笔者发现, 在黄瓜性型分化过程中可能存在一种“激素和基因协控的花器官凋亡”的新假说, 这种假说更能结合内源激素、性别决定基因的调节机制, 从新的角度来解释黄瓜的花型和株型的变化过程。

6 黄瓜性型分化的新思考

6.1 miRNA 与黄瓜性型分化

miRNA 是长度约为 22 nt, 广泛分布于植物基因组中的一类短的非编码单链小 RNA 分子, 主要调控植物器官的形态建成、生长发育、激素分泌与信号转导过程^[39]。Chen^[40]首次在拟南芥中发现超表达 miRNA172 可以抑制 ABCE 模型中 *AP2* 基因的转录后翻译并进而抑制雄蕊的形成。Meng 等^[41]在水稻中发现 miRNA164、miRNA167 特异性的表达使生长素通过 *ARF* (生长素响应子) 对水稻各器官发育进行反馈调节。

在黄瓜中, Huang 等^[4]已经明确表明, 该基因

组中分布着占黄瓜基因组总量的 0.007% 的 miRNA 前体。同时应用生物信息学手段, 笔者已经从黄瓜基因组中预测出了 381 条 miRNA 序列, 其中 Yang 等^[42]报道的 miRNA156、miRNA164、miRNA172 等参与花发育和性型分化相关的 miRNA 家族, 发现在黄瓜基因组中也普遍存在。由此我们推测, miRNA 可能参与了黄瓜花发育与性型分化的过程, 黄瓜花在孢子体时期发生的部分滞育可能与 miRNA 的负调控有关。虽然我们目前还没有证据证明这些推断的正确性, 但这种潜在的可能会给今后的研究指明方向。

6.2 黄瓜性型分化的调控网络

黄瓜性型分化的特殊性是物种进化所保留下来的最让人费解的问题之一。Wu 等^[10]首次采用高通量 Solexa 技术对涉及黄瓜多个途径的基因分析后认为, 其性型分化主要涉及植物激素信号途径有关的基因表达机制和转录因子的调节作用等两种机制。由于转录因子大多受到植物 miRNA 的调控, 所以我们猜测, 在这个途径中也可能存在 miRNA 的调控作用。笔者结合以上的研究和目前正在开展的工作, 对在黄瓜性型分化的各种机制进行了不同的划分, 构建了相对较为完整的性型分化的表达调控网络, 如下图 2 所示。

图 2A 部分表示各种激素通过合成途径和信号途径对黄瓜花发育存在信号诱导, 实现了黄瓜性型分化的正调控和转逆作用, 其中乙烯发挥了特异性的关键作用。图 2B 部分表示去阻遏作用使性型分化基因发生选择性表达, 出现了两条分化去路: 其中一条去路是一方原基细胞在特定阶段发生程序性凋亡而停滞, 只能由剩下一方原基细胞继续发育而形成单性株; 另一条去路是两性原基细胞都继续分化而形成两性花, 或两性花发育到一定阶段后发生性器官的部分凋亡而形成复性花进而形成两性株或复性株。此过程可以看作是花器官发育和性型分化的主体途径, 其他所有的调控途径的结果都是通过这个途径来体现的。图 2C 部分表示性型分化基因的表达, 包括潜在的 miRNA 调控作用, 这条途径是黄瓜性型分化的最关键且决定性的途径。性别决定基因、花发育基因以及 miRNA 都可以归结到这个途径中来。图 2D 表示环境因子对黄瓜性型分化的影响, 主要包括温度、光周期和营养条件等。

7 结束语

黄瓜的性型分化是困扰了近半个世纪的难题, 但正是这种困惑吸引着广大生物学家不断探索和研

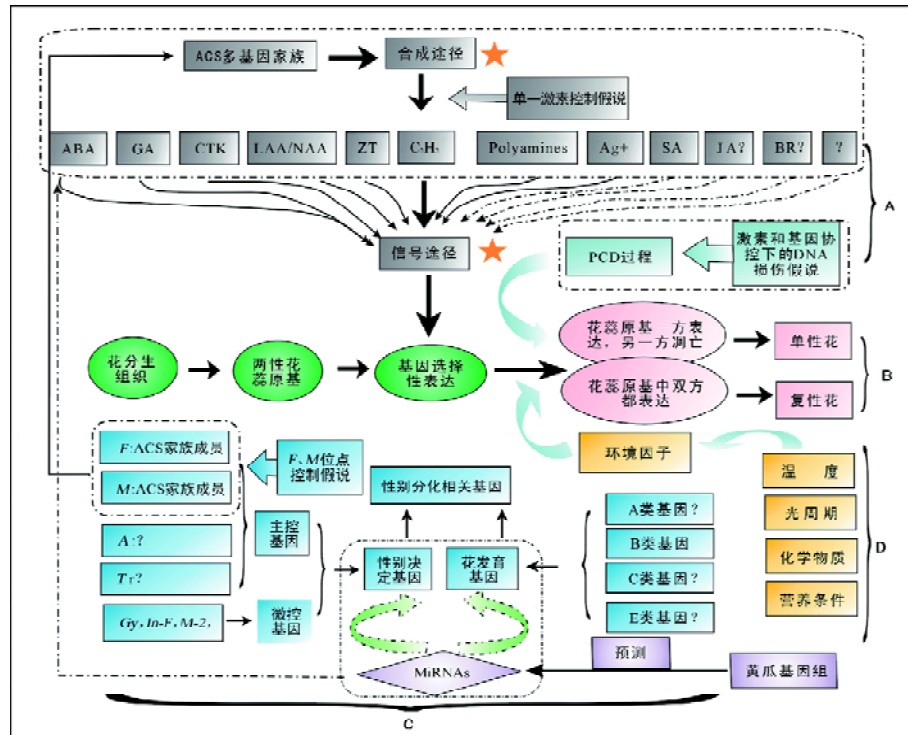


图2 黄瓜型性分化的表达调控网络

ABA: 脱落酸; GA: 赤霉素; CTK: 细胞分裂素; IAA: 生长素; NAA: 萘乙酸; polyamines: 多胺; ZT: 玉米素; SA: 水杨酸; JA: 茉莉酸; BA: 油菜素; PCD: 细胞编程性死亡; ACS: 乙烯合成酶; C_2H_4 : 乙烯; 箭头的粗细程度代表作用程度; 虚线表示潜在的作用关系; 2-A: 激素对黄瓜性型分化的信号诱导途径; 2-B: 黄瓜花器官发育途径; 2-C: 黄瓜性型分化基因的表达调控途径; 2-D: 环境因子对黄瓜性型分化的影响

究。目前包括黄瓜在内的许多植物的全基因组测序已经完成或正在进行, 利用这些大量已知的信息, 站在分子系统学的角度, 应用生物信息学手段, 研究黄瓜性型分化主要基因和基因家族的进化模式, 在基因组以及更高层次的水平, 可以为进一步研究植物性型分化的分子机制及进化提供新的突破。因此, 根据笔者所构建的黄瓜性型分化的表达调控网络(图2), 今后的研究需要从以下方面开展工作: (1) 寻找新的黄瓜 ABC 模型基因作为候选的性型分化基因, 并进一步确定其与性型分化的相关性; (2) 挖掘新的性别决定基因和性别决定的下游基因, 并分析 ACS 家族基因系统演化, 完善该家族的调控通路; (3) 克隆更多的黄瓜性别决定基因, 详细分析其在性型分化中的关键作用; (4) 研究新型激素在黄瓜性型分化中所起的作用, 并进一步分析乙烯等已知内源激素之间的交叉作用; (5) 分子生物学技术验证 miRNA 家族在黄瓜性型分化中的功能, 并深入挖掘性别决定基因、花发育基因和相关 miRNA 之间的内在关系(如图2中下半部虚线所示),

从而构建一个更加精细、更加完整的黄瓜性型分化调控的网络图, 这也是解决黄瓜性型分化乃至整个植物性型分化分子机制的最终目标。

[参 考 文 献]

- [1] 谭其猛. 蔬菜育种[M]. 北京: 农业科学出版社, 1980
- [2] Malepszy S, Niemirowicz-Szczytt K. Sex determination in cucumber (*Cucumis sativus*) as model system for molecular biology. *Plant Sci*, 1991, 80(1): 39-47
- [3] Milos T, Jo AB. Sex-determining mechanisms in land plants. *Plant Cell*, 2004, 16: S61-71
- [4] Huang S, Li R, Zhang Z, et al. The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nat Genet*, 2009, (41): 1275-81
- [5] Bai SL, Peng YB, Cui JX, et al. Developmental analyses reveal early arrests of the spore-bearing parts of reproductive organs in unisexual flowers of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Planta*, 2004, 220(2): 230-40
- [6] Coen ES, Meyerowitz EM. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 1991, 353(5): 31-7
- [7] Liu Z, Mara C. Regulatory mechanisms for floral homeotic gene expression. *Semin Cell Dev Biol*, 2010, 21(1): 80-6
- [8] Krizek BA, Fletcher JC. Molecular mechanisms of flower

- development: an armchair guide. *Nat Rev Genet*, 2005, 6(9): 688-98
- [9] Theissen G, Becker A, di Rosa A, et al. A short history of MADS-box genes in plants. *Plant Mol Biol*, 2000, 42(1): 115-49
- [10] Wu T, Qin Z, Zhou X, et al. Transcriptome profile analysis of floral sex determination in cucumber. *J Plant Physiol*, 2010, 167(11): 905-13
- [11] Perl-Treves R, Kahana A, Rosenmann N, et al. Expression of multiple *Agamous*-like genes in male and female flowers of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(7): 701-10
- [12] Filipecki MK, Sommer H, Malepszy S. The mads-box gene CUSI is expressed during cucumber somatic embryogenesis. *Plant Sci*, 1997, 125(1): 63-74
- [13] Kater MM, Franken J, Camey KJ, et al. Sex determination in the monoecious specific cucumber is confined to specific floral whorls. *Plant Cell*, 2001, (13): 481-93
- [14] Ando S, Sato Y, Kamachi S, et al. Isolation of a MADS-box gene (*ERAF17*) and correlation of its expression with the induction of formation of female flowers by ethylene in cucumber plants (*Cucumis Sativus* L.). *Planta*, 2001, 213(6): 943-52
- [15] 陶倩怡, 李征, 何欢乐, 等. 黄瓜单性花决定基因 *M* 的表达分析. *遗传*, 2010, (6): 1-12
- [16] 叶波平, 吉成均, 杨玲玲, 等. 不同性别表型黄瓜基因组中雌性系特异的ACC合酶基因. *植物学报*, 2000, 42(2): 164-8
- [17] Trebitsh T, Staub JE, O'Neill SD. Identification of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene linked to the *female* (*F*) locus that enhance female sex expression in cucumber. *Plant Physiol*, 1997, 113(3): 987-95
- [18] Kamachi S, Sekimoto H, Kondo N, et al. Cloning of a cDNA for a 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase that is expressed during development of flowers at the apices of *Cucumis sativus* L. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38(11): 1197-206
- [19] Mibus H, Tatlioglu T. Molecular characterization and isolation of the *F/f* gene of femaleness in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theor Appl Genet*, 2004, 109(8): 1669-76
- [20] Knopf RR, Trebitsh T. The female-specific *Cs-ACSIG* gene of cucumber. A case of gene duplication and recombination between the non-sex-specific *1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase* gene and a branched-chain amino acid transaminase gene. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47(9): 1217-28
- [21] Yamasaki S, Fujii N, Matsuura S, et al. The *M* locus and ethylene control sex determination in andromonoecious cucumber plants. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42(6): 608-19
- [22] Li Z, Liu S, Pan J, et al. Molecular isolation of the *M* gene suggests that a conserved-residue conversion induces the formation of bisexual flowers in cucumber plants. *Genetics*, 2009, 182(4): 1381-5
- [23] Li Z, Pan JS, Guan Y, et al. Development and fine mapping of three co2 dominant SCAR markers linked to the *M/m* gene in the cucumber plant (*Cucumis sativus* L.). *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 1253-60
- [24] Liu SQ, Xu L, Jia ZQ, et al. Genetic association of ETHYLENE2INSENSITIVE32 like sequence with the sex-determining *M* locus in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 927-33
- [25] Boualem A, Troadec C, Kovalski I, et al. A conserved ethylene biosynthesis enzyme leads to andromonoecy in two *Cucumis* species. *PLoS ONE*, 2009, 4(7): e6144
- [26] Kubicki B. Investigation of sex determination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Trimonoecism*. *Genet Pol*, 1969, 10: 123-43
- [27] Pirrung MC. Ethylene biosynthesis from 1-aminocyclopropanecarboxylic acid. *Acc Chem Res*, 1999, 32(8): 711-8
- [28] Yamasaki S, Fujii N, Takahashi H. Photoperiodic regulation of *CS-ACS2*, *CS-ACSA* and *CS-ERS* gene expression contributes to the femaleness of cucumber flowers through diurnal ethylene production under shortday conditions. *Plant Cell Environment*, 2003, 26(4): 537-46
- [29] Alonso JM, Stepanova AN. Ethylene signaling pathway. *Science*, 2004, 306(26): 1513-5
- [30] Yamasaki S, Fujii N, Takahashi H. The ethylene-regulated expression of *CS-ETR2* and *CS-ERS* genes in cucumber plants and their possible involvement with sex expression in flowers. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41(5): 608-16
- [31] Fujii N, Kamada M, Yamasaki S, et al. Differential accumulation of Aux/IAA mRNA during seedling development and gravity response in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Mol Biol*, 2000, 42(5): 731-40
- [32] Rudich J, Halevy AH. Involvement of abscisic acid in the regulation of sex expression in the cucumber. *Plant Cell Physiol*, 1974, 15(4): 635-42
- [33] Papadopoulou E, Grumet R. Brassinosteroid-induced femaleness in cucumber and relationship to ethylene production. *Hort Sci*, 2005, 409(6): 1763-7
- [34] 张菊平. 黄瓜花的性别决定. *生物学通报*, 2009, 44(6): 7-10
- [35] Yin T, Quinn JA. Tests of mechanistic model of one hormones regulating both sexes in *Cucumis Sativus* L. (Cucurbitaceae). *Am J Bot*, 1995, 82(12): 1537-46
- [36] Hao YJ, Wang DH, Peng YB, et al. DNA damage in early primordial anther is closely correlated with the stamen arrest in female flower of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Planta*, 2003, 217(6): 888-95
- [37] Wang DH, Li F, Duan QH, et al. Ethylene perception is involved in female cucumber flower development. *Plant J*, 2009, 61(5): 862-72
- [38] Yamasaki S, Manabe K. Potential involvement of *Cs1-MMP* in the arrest of sex organ development during sexual expression in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Jpn Soc Hort Sci*, 2009, 78(2): 195-9
- [39] Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, et al. MicroRNAs in plants. *Genes Dev*, 2002, 16(13): 1616-26
- [40] Chen X. A microRNA as a translation repressor of APETALA2 in *Arabidopsis* flower development. *Science*, 2004, 303(5666): 2022-5
- [41] Meng J, Chen D, Ma X, et al. Mechanisms of microRNA-mediated auxin signaling inferred from the rice mutant osaxr. *Plant Signal Behav*, 2010, 5(2): 883-98
- [42] Yang T, Lingui X, Li ZA. Functional diversity of miRNA in plants. *Plant Sci*, 2007, 172: 423-32