

## 植物激素与microRNA调控种子大小和发育的分子机制研究进展

毛家旺, 杨艳华\*, 陈克平, 谭小力\*

江苏大学生命科学学院, 江苏镇江212013

\*共同通信作者: 杨艳华(yanhuayang@126.com)、谭小力(xltan@ujjs.edu.cn)

**摘要:** 作为具有生命活力的植物幼体, 种子是植物特有的繁殖器官和植物生长发育的前提。种子大小是备受关注的农艺性状, 也是影响作物产量的关键因素之一。近年来, 随着种子大小调控机制研究工作的不断深入, 已鉴定出许多种子大小调控相关的基因。植物激素和microRNA (miRNA)在调节种子发育、大小、质量以及作物产量方面发挥着至关重要的作用。本文概述了植物激素与miRNA对植物种子大小和发育的调控作用及其分子机制, 为研究人员开展相关研究提供参考。

**关键词:** 种子大小; 种子发育; 激素调控; microRNA调控

## Research progress in molecular mechanisms of plant hormone and microRNA regulating seed size and development

MAO Jiawang, YANG Yanhua\*, CHEN Keping, TAN Xiaoli\*

School of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China

\*Co-corresponding authors: Yang YH (yanhuayang@126.com), Tan XL (xltan@ujjs.edu.cn)

**Abstract:** Seed is the specific reproductive organ of plants and is vital for plant growth and development. Seed size is an important agronomic character in agricultural production and a key factor affecting crop yield. During recent years, the regulation mechanism of seed size has been well studied, and many genes regulating seed size and related regulatory pathways have been identified. Plant hormone and microRNA (miRNA) play an extremely important role in regulating seed development, seed size, seed weight and crop yield. In this paper, the molecular mechanisms of plant hormone and miRNA regulating plant seed development and seed size are summarized, which provides a molecular understanding for the mechanisms regulating seed size and development, and a useful reference for researchers to carry out related work in the future.

**Key words:** seed size; seed development; hormone regulation; microRNA regulation

种子由胚、胚乳和种皮构成, 是植物特有的繁殖器官, 植物生命体的生长和发育都离不开种子。作为重要的产量性状, 种子大小是影响作物产量的关键因素之一。种子的最终大小及质量取决于胚、胚乳和种皮的协同生长, 而油菜素内酯(brassinosteroid, BR)、生长素(auxin, AUX)、细胞分裂素(cytokinin, CTK)、赤霉素(gibberellin, GA)和脱

落酸(abscisic acid, ABA)等植物激素在植物胚、胚乳和种皮的发育过程中发挥着极其重要的作用, 同时泛素化过程和microRNA (miRNA)等也参与调

收稿 2020-05-26 修定 2020-12-22

资助 国家重点研发计划项目(2016YFD0101900)、国家自然科学基金面上项目(31471527)和江苏大学高级专业人才科研启动基金(11JDG049)。

控种子发育。对农业生产而言,通过适当增加种子大小使农业经济作物增产具有非常重要的应用价值。近年来,种子发育及大小调控机制的研究已成为种子生物学的热点,研究人员通过分析种子发育缺陷突变体或数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)等分子遗传学的方法,已鉴定出许多调控种子大小的基因。研究发现,模式植物水稻(*Oryza sativa*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)调控种子发育的大部分基因均通过参与植物激素代谢或信号转导通路对植物种子大小产生影响。在植物激素中, BR和赤霉素是通过调节细胞伸长来调控株高的主要激素,它们参与植物多种发育过程,特别是组织伸长,缺乏这2种激素的突变体表现出植物矮化的表型(Tong等2014)。CTK、生长素和脱落酸对于种子发育也起到一定的调控作用;这些植物激素的信号途径彼此相互作用,共同调控植物的种子大小。种子发育除受各种内源激素调控之外, miRNA在种子发育的过程中也具有重要作用。但是, miRNA在种子发育中的调控作用复杂多样,并且不同miRNA具有严格的时空表达性(Gulyaeva和Kushlinskiy 2016)。本文从植物激素及miRNA着手,概述了其调控植物种子大小和发育的分子机制及国内外研究最新进展,为后续相关研究提供参考。

## 1 激素对种子大小和发育的调控作用

### 1.1 油菜素内酯

油菜素内酯(BR)又称为芸薹素内酯,是一种天然的植物激素,在植物的生长发育过程中发挥重要作用。BR不仅参与茎伸长、分蘖、叶片展开、维管束分化、气孔发育、抗逆及调控衰老等过程(Ahanger等2020; Hu等2017; Planas-Riverola等2019; Wang等2012; Zhu等2013),在决定拟南芥种子大小、质量和外形方面也起着关键作用(Jiang等2013)。当前,在模式植物拟南芥和水稻中对于BR生物合成和信号转导途径已经研究得比较清楚(Tong等2014; Zhu等2013; Hao等2013; Zhao和Li 2012)。BR被富含亮氨酸的受体激酶BRI1 (BRASSINOSTEROID INSENSITIVE1, 油菜素内酯敏感因子1)识别后,把信号转导给BR激活转录因子BZR1 (BRA-

SSINAZOLE-RESISTANT, 油菜素内酯不敏感转录因子)和BZR2,进而调控下游的BR响应基因(Zhu等2013)。研究发现, BR通过调节*SHB1* (*SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE1*)-*MINI3* (*MINI-SEED3*)-*IKU2* (*HAIKU2*)、*AP2* (*APETALA2*)和*ARF2* (*AUXIN RESPONSE FACTOR2*, 生长素响应因子2)的转录,来调控种子发育并影响种子的最终大小(Ohto等2009; Zhu等2013; 图1)。SHB1、MINI3和IKU2是种子发育的关键基因和种子大小的正调控因子,而AP2和ARF2是种子大小的负调控因子。AP2参与胚、胚乳和种皮的发育;与野生型相比, *ap2*缺失突变体的胚细胞明显增大,珠被细胞变长(Ohto等2009)。BR能激活SHB1、MINI3和IKU2的表达,抑制AP2和ARF2的表达,这些基因在体内与转录因子BZR1结合,影响胚、胚乳和珠被发育的特定过程,协调三者的生长,进而影响种子大小和形状(Jiang等2013; Zhu等2013)。除SHB1-MINI3-IKU2途径外, BR还可以调控其他影响种子大小的途径。*KLU* (*KLUH*)在植物发育胚珠的内珠被中表达,并在珠被中促进细胞的增殖。过表达*KLU*促使种子变大,而缺失突变体的种子变小。BR可以上调*KLU*的表达水平,而*KLU*是BZR1的直接靶标(Adamski等2009)。这些结果表明, BR可能通过BZR1激活*KLU*来正向调节珠被发育。

在拟南芥中,强BR缺失突变体*dwf4* (*dwarf4*)和组成型光形态建成与矮化突变体*cpd* (*constitutive photomorphogenesis and dwarfism*)表现为完全雄性不育,弱BR缺失突变体*det2* (*de-etiolated2*)也表现出受精率下降以及种子变小的表型(Ye等2010)。Jiang等(2013)研究发现, BR缺失突变体*det2*和BR不敏感突变体*bri1-5*结实率降低,种子明显变小、变短。同时, *det2*胚发育延迟,并伴随细胞变小和细胞数量减少。用野生型的花粉对*det2*进行授粉,可获得大小正常但外形仍较短的种子,说明胚和胚乳产生的BR虽然可以使种子体积增大,但不能使种子变长。以野生型为父本, *det2*、*dwf4*或*bri1-116*突变体为母本产生的杂合体种子大小与父本种子大小均一致,而种子外形与母本种子外形一致,说明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外形。*det2*突变体种子的胚

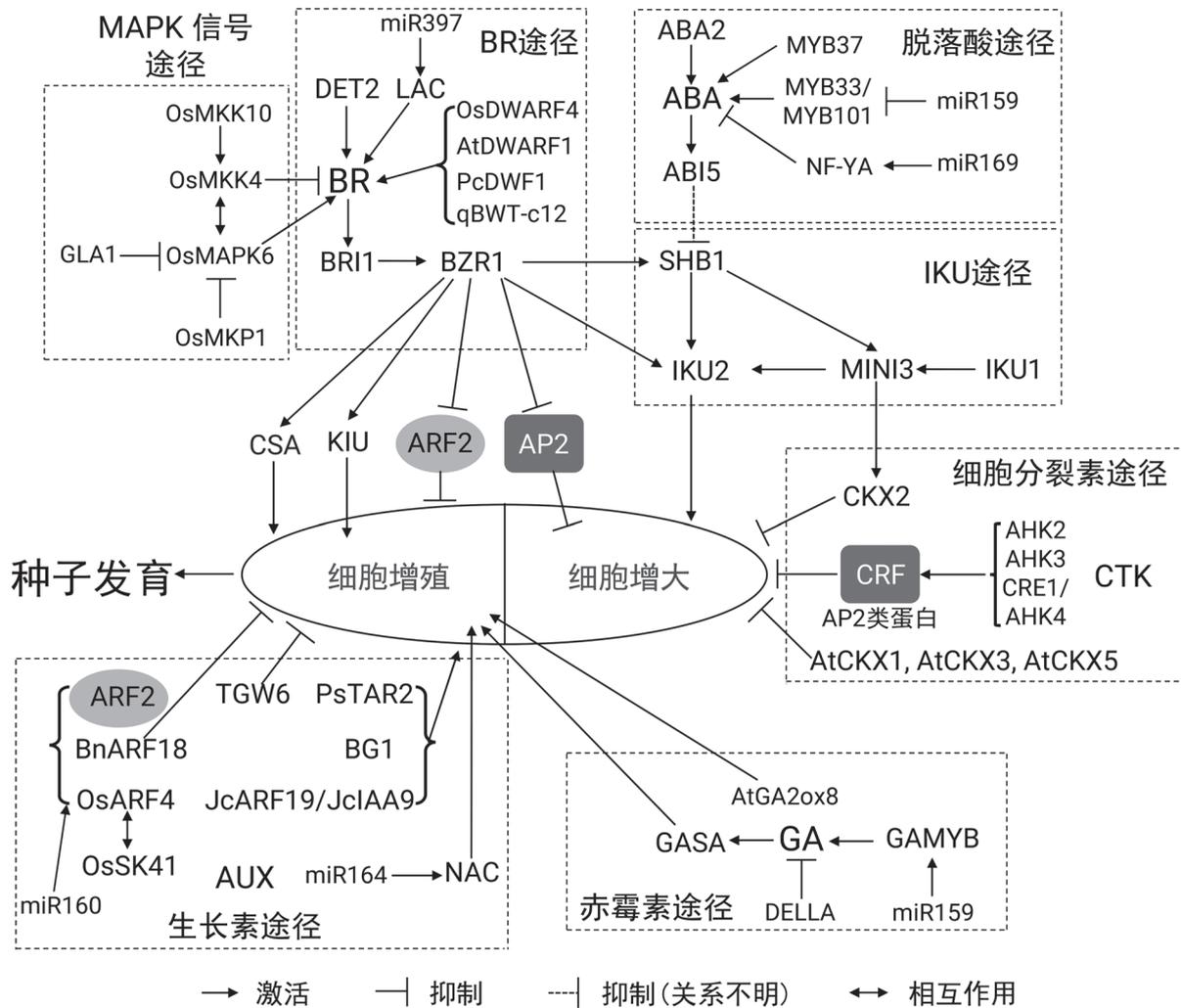


图1 植物激素和miRNA调控种子发育的分子机制

Fig. 1 Molecular mechanisms of plant hormone and miRNA regulating seed development

ABI: abscisic acid-insensitive (脱落酸不敏感因子); AHK: *Arabidopsis* histidine kinase (拟南芥组氨酸激酶); ARF: auxin response factor (生长素响应因子); BG: big grain; BRI1: brassinosteroid insensitive1 (油菜素内酯敏感因子1); BWT: boll weight; BZR1: brassinazole-resistant1 (油菜素内酯不敏感因子1); CKX: cytokinin oxidase (细胞分裂素氧化酶); CRE: cytokinin receptor (细胞分裂素受体); CRF: cytokinin related factor (细胞分裂素相关因子); CSA: carbon starved anther; DET2: de-etiolated2; DWF: dwarf (矮化); GA2ox: GA2 oxidase (GA2氧化酶); GASA: gibberellic acid stimulated *Arabidopsis*; GLA1: grain length and awn1; GSK: glycogen synthase kinase (糖原合酶激酶); IAA: indoleacetic acid (吲哚乙酸); MAPK6: mitogen-activated protein kinase (丝裂原激活蛋白激酶); MKK: mitogen-activated protein kinase kinase (丝裂原激活蛋白激酶激酶); MKP1: mitogen-activated protein kinase phosphatase (丝裂原激活蛋白激酶磷酸酶); SK41: GSK3/SHAGGY-like kinase (GSK3/SHAGGY样激酶); TAR2: tryptophan aminotransferase related2 (色氨酸转氨酶相关蛋白); TGW: thousand-grain weight. 相同形状表示其为同一类蛋白。参考Li等(2019)并作修改。

变小并且珠被细胞变短, 施加外源BR能部分恢复其种子的表型, 野生型施加外源BR后也可使种子质量增加, 说明BR正调控种子的大小。水稻中已报

道的BR生物合成途径的突变体, 如*d1* (G protein  $\alpha$  subunit mutant, G蛋白 $\alpha$ 亚单位突变体)、*d2* (a mutant of BR biosynthetic enzyme, CYP90D, BR生物

合成酶突变体)、*d11* (a mutant of BR biosynthetic enzyme, CYP724B1, BR生物合成酶突变体)、*brd1* (*BR-deficient mutant*)、*brd2*, 或影响BR信号途径的突变体如*bri1*、*d61* (a rice dwarf mutant, *D61* gene encodes a putative protein kinase with a high similarity to BR11, 水稻矮秆突变体, 编码一个与BR11高度相似的蛋白激酶)均导致水稻籽粒变小且短圆(Okie等2009; Morinaka等2006)。*CSA* (*Carbon Starved Anther*)编码含MYB结构域的蛋白, BR信号转导途径关键转录因子*BZR1*通过直接启动*CSA*的表达来促进水稻花粉和种子的发育。过表达BR合成基因*D11*或*OsBZR1*导致花药和籽粒中糖分积累增加, 同时提高产量。相反, *D11*或*OsBZR1*表达水平降低导致花粉发育不良、种子变小和种子质量下降, 淀粉积累量也下降(Zhu等2015)。*SRS5* (*SMALL AND ROUND SEEDS*)编码 $\alpha$ -微管蛋白, 该基因独立于BR信号通路调节粒长。水稻BR生物合成突变体*d2-2*和BR不敏感突变体*d61-2*产生小籽粒, 在*d2-2*、*d61-2*突变体中过表达*SRS5*可挽救缩短的粒长, 使粒长增加并提高产量(Segami等2017)。研究发现, 水稻丝裂原激活蛋白激酶6 (mitogen-activated protein kinase6, MAPK6)可以通过影响细胞增殖和BR反应来调节水稻种子和器官的大小, 它与丝裂原激活蛋白激酶4 (mitogen-activated protein kinase 4, MKK4)发生较强的相互作用。*OsMKK4*是*OsMAPK6*上游的MAPK激酶, 可以抑制BR反应以及BR相关基因的表达, 说明MAPK途径与BR在水稻籽粒生长发育过程中可能存在一定的联系(Liu等2015c; Li等2019; 图1)。

近年来, 在陆地棉(*Gossypium hirsutum*)、秋子梨(*Pyrus ussuriensis*)等其他植物中也发现了BR相关的调控机制。Ahmed等(2020)发现陆地棉铃重(boll weight, BWT)调控基因*qBWT-c12*参与了BR介导的棉花器官大小的调控。*PcDWF1*是一个位于质膜内与*AtDWARF1*同源的秋子梨BR生物合成基因。在烟草(*Nicotiana tabacum*)和秋子梨中过表达*PcDWF1*可促进茎的生长。与野生型相比, 过表达*PcDWF1*的烟草开花时间延迟并产生较大的种子, 说明*PcDWF1*影响植物的营养生长和生殖生长, 是多年生木本果树BR生物合成途径中的重要基因

(Zheng等2020)。BR途径调控种子大小和发育的相关基因及其功能详见表1。

## 1.2 生长素

生长素能够调控植物生长发育的多个方面, 如促进细胞伸长、参与调控胚的结构及大小等。生长素合成基因*YUC* (*YUCC*)缺失将导致胚各发育时期的结构异常, 说明生长素可以促进胚组织的正常形成(Pagnussat等2009)。PIN (PIN-FORMED)蛋白是生长素极性运输的依赖因子, 该蛋白决定生长素在胚中有序分布, 影响胚细胞的正常分裂, 确保受精卵能够顺利发育为心形胚。*pin1*、3、4、7缺失突变体的种子缺少胚根, 心形胚时期则会发育成球状, 说明生长素的分布在很大程度上影响胚的发育过程(Petrášek和Friml 2009)。

生长素通过影响细胞分裂、细胞扩张和分化, 在决定植物器官大小方面发挥着至关重要的作用。研究表明, 生长素可以通过*ARF*实现对种子大小的调控(Guilfoyle和Hagen 2007)。*ARF*通过结合靶基因启动子区域的生长素反应元件(*auxin-responsive element*, *AuxRE*)来调节其转录。拟南芥中有23个*ARF*基因, 其中*ARF2*可以调节种子的大小(Okushima等2005)。*ARF2*通过与*AuxRE*的结合来调节与生长素相关基因的表达, 其主要通过抑制胚珠发育过程中珠被细胞的分裂和伸长来调控种子的大小, *arf2*缺失突变体的种子外形明显较野生型大。生长素与BR具有相似的生理功能, 可以促进细胞伸长和分裂, 而且两者在分子水平上存在交叉互作机制, 说明两种激素途径可能共享大量的下游响应基因。Hirano等(2017)的研究结果也证实SMOS1 (*SMALL ORGAN SIZE1*)与SMOS2/*DLT* (*DWARF AND LOW-TILLERING*, 矮秆低分蘖)可以形成一个生长素和BR信号转导互作的关键复合物。

此外, 在其他植物中也存在类似*ARF2*的调控机制。在水稻中, 激活*BGI* (*Big Grain1*)基因的表达能够调节生长素的运输分布, 加快植物发育进程, 使得种子大小和粒重大幅增加(Liu等2015b)。*OsARF4*和*OsSK41* (*GSK3/SHAGGY-like kinase 41*, *GSK3/SHAGGY*样激酶41)可抑制水稻籽粒发育过程中一些生长素下游响应基因的表达, 进而调控水稻籽粒的大小(Hu等2018)。麻风树(*Jatropha*

表1 已鉴定的参与调节种子大小和发育的植物激素相关基因  
Table 1 Identified plant hormone-related genes involved in regulating seed size and development

途径	蛋白名称	蛋白分类	功能	来源物种	功能缺失或表达下调表型	功能获得或过表达表型	参考文献
BR途径	BEN1	二氢黄酮醇4-还原酶类蛋白	调节BR水平	拟南芥	促进器官伸长	半矮表型	Yuan等2007
	BRI1	富含亮氨酸重复序列受体样蛋白激酶、BR敏感因子1	BR信号通路	拟南芥	种子变小	—	Wang等2001
	BAK1	LRR受体样蛋白激酶(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)	BR11介导的BR信号转导	拟南芥	矮化表型, 叶片圆形, 叶柄缩短	植物器官伸长	Li等2002
	BZR1	BR不敏感因子	BR信号通路	拟南芥	—	与野生型无明显差异	Jiang等2013
	DWF4	细胞色素P450酶	BR合成相关	拟南芥	—	促进营养生长和提高产量	Choe等2001
	DET2	类固醇5 $\alpha$ 还原酶	BR合成相关	拟南芥	小种子, 种子长度较短, 宽度变大	—	Jiang等2013
	OsBRI1	BR敏感因子1	BR信号通路	水稻	籽粒变小	单株穗数和粒重略有增加	Morinaka等2006
	OsBU1	螺旋-环-螺旋蛋白	正调节BR信号通路	水稻	直立叶	籽粒增大, 对BR有抗性	Tanaka等2009
	OsBZR1	BR不敏感转录因子	BR信号通路	水稻	籽粒变小和粒重减少	花药和种子中积累较高的糖分	Zhu等2015
	DII	D11	细胞色素P450酶	BR合成相关	水稻	籽粒变小和粒重减少	—
GSK2		糖原合酶激酶2	负调节BR信号通路	水稻	籽粒变大	—	Che等2015
GL2		与水稻粒长相关QTL	介导油菜素类固醇反应	水稻	籽粒变短	—	Che等2015
GW5		具有IQ域的质膜相关蛋白	BR信号负调控因子	水稻和谷物	宽而重的籽粒	籽粒变窄	Weng等2008
AP2		AP2/EREBP(乙烯反应元件结合蛋白)类转录因子的一个成员	BR负调控因子	拟南芥	ap2突变体产生更大的种子	种子的大小和质重显著降低	Ohto等2009
生长素途径	PcDWF1	FAD依赖性氧化还原酶和Ca <sup>2+</sup> 依赖性钙调蛋白结合蛋白BR反应环H2蛋白(E3连接酶环蛋白)	BR生物合成途径和限速	秋子梨	种子变小	种子变大	Zheng等2020
	qBWT-c12 (GhBRH1 A12)	生长素响应因子2	调节BR稳态	海岛棉	棉铃变小	—	Ahmed等2020
	ARF2	生长素响应因子2	与生长素反应元件结合, BR负调控因子	拟南芥	种子变大	种子变小	Okushima等2005
	OsARF4	生长素响应因子4	与OsSK41相互作用, 种子大小负调控因子	水稻	增加籽粒大小粒重	—	Hu等2018

表1 (续1)

途径	蛋白名称	蛋白分类	功能	来源物种	功能缺失或表达下调表型	功能获得或过表达表型	参考文献
生长素途径	OsBg1 D	新型质膜相关蛋白	调节生长素的运输	水稻	株高、穗长、籽粒大小以及千粒重均降低	籽粒变大和粒重增加	Liu等2015b
	TGW6	吲哚-3-乙酸-葡萄糖水解酶	控制IAA供应	水稻	粒重和产量增加	—	Ishimaru等2013
	SMOS1	AP2类转录因子	生长素依赖的器官大小调节因子	水稻	器官变小	—	Aya等2014
	SMOS2/ DLT	GRAS转录因子	参与生长素和BR信号的串通	水稻	—	—	Hirano等2017
	JcARF19	生长素响应因子19	生长素信号转导正调节因子	麻风树	种子变短	种子变大, 提高种子干重和油脂产量	Sun等2017
	JcARF19/ JcIAA9	生长素响应因子19/ 吲哚乙酸9	生长素信号转导正调节因子	麻风树	—	—	Ye等2014
	BnARF18	生长素响应因子18	生长素负调节因子	甘蓝型油菜	角果长度和粒重增加	—	Liu等2015a
	BnaA9\CYP-78A9	细胞色素P450单加氧酶	影响生长素代谢或生物合成	甘蓝型油菜	—	角果长度和粒重增加	Shi等2019
	PsTAR2	色氨酸转氨酶相关蛋白	参与生长素生物合成	豌豆	种子变小	—	McAdam等2017
	DASH	DOP转录因子	胚乳发育	藜藜苜蓿	种子质量显著降低, 荚果种子数减少	—	Noguero等2015
CTK途径	AHK2, AHK3	拟南芥组氨酸激酶	CTK受体	拟南芥	三突变体的种子质量显著增加	—	Riefle等2006
	CRE1/AHK4	拟南芥组氨酸激酶	CTK受体	拟南芥	—	花期早, 生殖生长期长, 种子产量增加	Bartima等2017
	AhCKX3, AhCKX5	CTK氧化酶/脱氢酶	降解CTK	拟南芥	角果变长, 单个角果的种子增多, 种子产量增加	—	Bartima等2011
	OsCKX2	CTK氧化酶/脱氢酶	降解CTK	水稻	分蘖数、每穗粒数、单株粒数和粒重增加, 产量提高	分蘖数、穗数、每穗粒数和总生物量减少	Ashikari等2005; Yeh等2015
	OsCKX3, OsCKX5	CTK氧化酶/脱氢酶	降解CTK	水稻	延缓衰老, 分蘖数增加	—	Yeh等2015
OsBG3/OsPUP4	嘌呤渗透酶	CTK的长距离运输和局部分配	水稻	表型和野生型相似, 很少或无 <b>bg3-D</b> 表型	分蘖角增大, 籽粒增大, 籽粒数减少	Xiao等2019	
OsPUP7	—	—	—	—	—	—	

表1 (续2)

途径	蛋白名称	蛋白分类	功能	来源物种	功能缺失或表达下调表型	功能获得或过表达表型	参考文献
CTK途径	TaGW2-6A	E3环型泛素连接酶	调节CTK和淀粉相关基因的表达	小麦	粒宽和粒重增加	—	Geng等2017
	GhCKX	CTK脱氢酶	控制植物内源性CTK的关键负调节因子	陆地棉	叶片衰老延迟, 光合速率提高, 单株果枝和棉铃增多, 种子变大, 棉纤维和种子产量增加	棉纤维品质影响不大	Zhao等2015
赤霉素途径	GASA4	细胞壁定位蛋白	调控花分生组织的一致性	拟南芥	产生更多的侧芽, 种子变小	种子较小, 但种子质量高于野生型	Roxrud等2007
	GASA10 AtGA2ox8	GASTI样蛋白、细胞壁蛋白 GA2氧化酶	调节细胞壁伸长 降低活性赤霉素的含量	拟南芥 甘蓝型油菜	—	荚长缩短 种子发芽延迟, 矮化表型	Trapalis等2017 Zhou等2011, 2012
脱落酸途径	GAMYB	GAMYB蛋白	赤霉素信号级联正调节因子	拟南芥	—	—	Das等2015
	ABA2	短链脱氢酶还原酶	参与脱落酸生物合成	拟南芥	种子变小, 产量增加, 发育迟缓, 早花	—	Cheng等2014
	ABI5 MYB37	碱性区域亮氨酸链转录因子 R2R3-MYB转录因子	参与脱落酸信号转导 过表达呈脱落酸超敏表型	拟南芥 拟南芥	种子变大	—	Cheng等2014 Yu等2016
	MYB33/ MYB101 NF-YA	MYB转录因子 NF-YA转录因子	脱落酸信号正调控因子 脱落酸信号负调控因子	拟南芥 拟南芥	对脱落酸信号不敏感	—	Reyes和Chua 2007
IKU途径	DA1	泛素受体蛋白	抑制细胞增殖	拟南芥	<i>dal</i> 缺失突变体对脱落酸不敏感, 导致植物器官和种子变大	—	Li等2008a, 2013a; Mu等 2013
	IKU1	具有植物特有VQ基序的核蛋白	通过调节胚乳增殖控制种子大小	拟南芥	<i>iku1</i> 突变体导致胚乳生长减慢和产生小种子	—	Wang等2010 Li等2008b; Du等 2014

表1 (续3)

途径	蛋白名称	蛋白分类	功能	来源物种	功能缺失或表达下调表型	功能获得或过表达表型	参考文献
KU途径	IKU2	LRR受体激酶	通过调节胚乳控制种子大小和增殖	拟南芥	等位基因突变, 胚乳生长减慢, 种子变小	—	Luo等2005
	MINI3	WRKY类转录因子	通过调节胚乳控制种子大小和增殖	拟南芥	等位基因突变, 胚乳生长减慢, 种子变小	—	Luo等2005
	SHB1	转录共激活剂	促进胚细胞增殖和变大	拟南芥	种子变小	种子变大	Zhou等2009

ABI5: abscisic acid-insensitive5 (脱落酸不敏感因子5); ARF: auxin response factor (生长素响应因子); AHK: *Arabidopsis* histidine kinase (拟南芥组氨酸激酶); BAK1: bri1-associated receptor kinase1 (bri1相关受体激酶1); BEN1: bri1-5 enhanced1; BG1: big grain; BRI1: brassinosteroid insensitive1 (油菜素内酯敏感因子1); BU1: brassinosteroid upregulated1 (BR上调因子1); BWT: boll weight; BZR1: brassinazole-resistant1 (油菜素内酯不敏感因子1); CKX: cytokinin oxidase (细胞分裂素氧化酶); CRE: cytokinin receptor (细胞分裂素受体); D11: CYP724B1; DAI: a predicted ubiquitin receptor (泛素受体蛋白); DASH: DOF acting in seed embryogenesis and hormone accumulation (DOF转录因子, 在种子胚发生和激素积累中起作用); DLT: dwarf and low-tillering (矮秆低分蘖); DWF: dwarf (矮化); GA2ox: GA2 oxidase (GA2氧化酶); GASA: gibberellic acid stimulated *Arabidopsis*; GL: grain-length-associated QTL (粒长相关QTL); GSK2: glycogen synthase kinase (糖原合酶激酶); GW: grain width and weight-associated QTL (粒宽和粒重相关QTL); IAA: indoleacetic acid (吲哚乙酸); PUP: purine permease (嘌呤渗透酶); SMOS: small organ size; TAR2: tryptophan aminotransferase related2 (色氨酸转氨酶相关蛋白)。海岛棉: *Gossypium barbadense*; 麻风树: *Jatropha curcas*; 莢藜苜蓿: *Medicago truncatula*; 小麦: *Triticum aestivum*。

*curcas*) *JcARF19*和*JcIAA9*基因(*indole acetic acid*, 吲哚乙酸基因)参与生长素信号转导, 两个基因的相互作用在决定种子大小方面起着关键作用(Ye等2014)。甘蓝型油菜(*Brassica napus*) *BnARF18*可以抑制其下游生长素基因的活性, 通过生长素途径调节细胞生长。*BnARF18*基因中165 bp的碱基缺失可以阻止ARF18形成二聚体, 导致其结合活性丧失, 以及油菜的角果长度和粒重增加(Liu等2015a)。

近年来, 其他的生长素相关基因也逐渐被探明功能。油菜*BnaA9.CYP78A9* (cytochrome P450 monooxygenase, 细胞色素P450单加氧酶)利用其上游的一个CACTA转座子作为增强子, 促进油菜角果长度和粒重增加(Shi等2019)。*TGW6* (*THOUSAND-GRAIN WEIGHT6*)编码吲哚-3-乙酸-葡萄糖水解酶, 为来自印度长白稻‘Kasalath’ (*O. sativa* spp. *indica*)的一个基因, 其等位基因的功能缺失会造成对源器官的多效性效应, 使得水稻单粒重增加, 产量显著提高。在水稻库器官中, ‘日本晴’ (*O. sativa* spp. *japonica*) *tgw6*等位基因通过控制IAA供应、限制细胞数量来影响合胞期向细胞期过渡的时间(Ishimaru等2013)。*PsTAR2* (*TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE RELATED*, 色氨酸转氨酶相关蛋白基因)参与生长素生物合成, 其突变导致种子发育过程中生长素缺乏, 使得种子变小, 种子淀粉含量降低, 证实生长素为豆科植物豌豆(*Pisum sativum*)维持正常种子大小和淀粉积累所必需的(McAdam等2017)。生长素途径调控种子大小和发育的相关基因及其功能详见表1。鉴定新的生长素合成或转运相关基因, 一方面有助于研究生长素调控种子发育的分子机制, 另一方面也可为提高作物产量提供有益的参考。

### 1.3 细胞分裂素

细胞分裂素(CTK)是一类促进细胞分裂并调节植物生长发育和生理过程的植物激素, 包括促进茎尖和根尖分生组织的细胞分化、维管发育、养分吸收和分配、延缓叶片衰老、提高植物抗逆性(Werner和Schmulling 2009; Zhao等2015)。已有研究表明, CTK可以调控植物种子的质量, 并且是种子产量的关键调节因子(Ashikari等2005; Zhao等2015; Bartrina等2011, 2017; Riefler等2006; Jam-

eson和Song 2016)。CTK与生长素具有协同作用,在拟南芥主根中,细胞分裂和分化的平衡主要由SHY2 (SHORT HYOPCOTYL2)基因连接并通过调控生长素和CTK信号通路来实现。拟南芥组氨酸激酶(Arabidopsis histidine kinase, AHK)是CTK的受体,通过拟南芥组氨酸磷酸转移蛋白(Arabidopsis histidine phosphor transfer protein, AHP)将磷酸基团带入细胞核内,激活拟南芥响应基因(Arabidopsis response regulator, ARR),从而调控下游基因表达(Kakimoto 2003)。

CTK对于拟南芥的种子大小发育起着至关重要的作用。CTK合成途径或信号途径相关基因的突变均导致拟南芥的种子变大,主要原因是CTK造成胚乳发育的改变,影响胚细胞的数量和大小。在CTK缺失突变体和不敏感突变体中,CTK受体AHK2、AHK3和CRE1/AHK4 (cytokinin receptor, CRE)单基因或双基因突变不会影响种子的大小,但是ahk2 ahk3 cre1三基因缺失突变体的种子大小是其野生型种子的2倍大。进一步研究发现,细胞数目增多和胚细胞增大使种子增大,说明CTK在种子发育过程中通过调节胚细胞的生长调控种子大小(Riefeler等2006)。受体蛋白的缺失导致种子变大可能是由AHK无法激活下游的CTK相关因子(cytokinin related factor, CRF)导致的,该蛋白属于种子发育负调控因子AP2类蛋白。Bartrina等(2017)利用AHK2和AHK3基因的组成型功能获得突变体rock2 (repressor of cytokinin deficiency, CTK缺乏抑制因子)和rock3对局部增强的CTK信号反应进行研究,发现携带rock2和rock3等位基因的株系花期早,生殖生长期长,种子产量增加,证实CTK调节植物的生殖生长。

CTK氧化酶(CTK oxidase, CKX)降解内源CTK,是植物内源CTK的关键负调控因子(Yeh等2015)。CKX由多基因家族编码,拟南芥中有7种CKX,水稻中有11种CKX,它们的表达区域、亚细胞定位和生化特性都存在差异(Werner等2003; Ashikari等2005)。在11种水稻CKX中,OsCKX2参与调控水稻产量。OsCKX2表达水平下降导致CTK在花序分生组织中积累,生殖器官的数量、每穗粒数和单株粒数增加,从而提高水稻产量(Ashikari等2005)。Yeh

等(2015)研究证实,通过短发夹RNA (short hairpin RNA, shRNA)介导的基因沉默特异性抑制OsCKX2的表达,可以促进水稻的生长并通过增加分蘖数和粒重来提高水稻产量。AtCKX3和AtCKX5可以调节拟南芥分生组织的活性,ckx3 ckx5双突变体可以形成更大的花序和花分生组织。同时,ckx3 ckx5双突变体的花末端细胞分化受到抑制,形成更多的细胞并且细胞变大,证实CTK可以调节花器官的大小。此外,ckx3 ckx5双突变体的角果变长、单个角果的种子粒数增多,种子产量增加约55% (Bartrina等2011)。CKX2是IKU途径的一个靶点,CKX2的表达能被IKU途径的转录因子WRKY10激活并促进胚乳生长。AtCKX2在iku1和iku2突变体中的表达量较低,将AtCKX2基因在iku2-2中过表达,其种子显著变大,说明由BR参与调控的IKU途径可能通过CTK信号途径影响种子大小(Li等2013b)。bg3-D (big grain3)突变体的籽粒显著变大,这是由BG3/OsPUP4基因(PURINE PER-MEASE, 嘌呤渗透酶基因)激活造成的,该基因主要在维管组织中表达,可被外源CTK特异抑制。进一步分析发现,OsPUP4可调节CTK的长距离运输和局部分配(Xiao等2019)。Wang等(2020)利用基因编辑技术获得了CTK激活酶OsLOGL5 (lonely guy, LOG)基因的6个编辑变种,并调查了这些变种在不同的非生物胁迫条件下的田间表现。研究结果表明,在干旱条件下,6个编辑植株的结实率、总粒数、每穗粒数和千粒重均显著提高,表明OsLOGL5参与了调控水稻种子发育和灌浆过程。

其他植物中也存在与CTK相关的种子大小调控基因。比如,小麦(Triticum aestivum)插入型TaGW2-6A等位基因变异使胚乳细胞数目和细胞大小增加,籽粒灌浆加快并显著增加粒宽和粒重。研究发现,TaGW2-6A等位基因变异使CTK合成基因和淀粉生物合成关键酶ATPase基因显著上调,而CTK降解基因和淀粉生物合成负调控因子显著下调,促进细胞分裂、变大和淀粉积累,进而调控种子大小和粒重(Geng等2017)。在棉花中,中度抑制GhCKX基因的表达,可以提高转基因陆地棉内源CTK的分泌,使得转基因棉花叶片衰老延迟、光合速率提高、棉铃数增加,但不影响棉纤维的品质(Zhao等

2015)。上述研究表明, CTK在种子发育过程中发挥着极其重要的作用, 适度提高内源CTK水平是提高作物产量的一个可行且有效的策略。

#### 1.4 赤霉素

赤霉素是植物生长发育过程中的关键生长调节剂, 主要分布在生长旺盛部位, 参与植物生长发育的多个生物学过程, 包括茎的伸长、种子萌发、下胚轴伸长、果实成熟、叶扩展以及植物从营养生长到开花的转变。赤霉素的生物合成与失活途径均受植物发育、激素和环境信号的严格调控。已有研究证实, 赤霉素MYB蛋白是赤霉素信号级联反应的正调节因子, 而DELLA蛋白是赤霉素信号通路的关键负调控因子, 两者共同调控由赤霉素诱导的植物生长发育(Zentella等2007; Das等2015)。赤霉素与受体结合后, 直接与DELLA蛋白结合并通过泛素-蛋白酶体途径将其快速降解, 解除DELLA蛋白对赤霉素信号转导途径的抑制(Zentella等2007)。

当前, 赤霉素已被广泛应用于农业生产以提高作物产量。Zhou等(2011, 2012)将拟南芥*AtGA2ox8*基因(*GA2 oxidase*, *GA2*氧化酶基因)导入甘蓝型油菜中过量表达, 转基因植株不仅表现出矮化表型, 而且其叶片叶绿素含量和整株的光合作用能力均显著提高。与野生型相比, 转基因植株的一次分枝数和角果数显著增加, 种子产量和含油量也大幅提高。此外, 转基因植株叶片中的花青素含量显著提高, 增强了其对胁迫的耐受性。Huang等(2014)用外源 $GA_3$ 处理甘蓝型油菜灌浆期不同发育阶段的角果, 发现花后25 d (25 days after flowering, 25 DAF)和花后35 d (35 DAF)取材的实验组油菜角果明显变长、干重增加, 但种子千粒重降低。研究发现, 经过 $GA_3$ 处理, 种子中总糖和硫代葡萄糖苷的含量显著上升, 粗脂肪含量在种子发育早期增加, 但在种子发育中后期保持稳定。比较而言, 总蛋白含量在种子发育早期和中期下降, 但在种子发育后期显著增加。上述结果表明, 内源和外源赤霉素均参与调节种子发育、种子储藏物质积累和硫代葡萄糖苷的生物合成过程(Huang等2014; Zhou等2011, 2012)。

已有研究表明, 受赤霉素调控的*GASA* (*giber-*

*ellic acid stimulated Arabidopsis*)基因家族不仅参与调控生长发育过程, 而且影响植物体内的激素水平, 参与植物激素信号转导过程(Fan等2017; Roxrud等2007; Trapalis等2017; Zhong和Wang 2016)。GASA是植物特异性蛋白, 编码富含半胱氨酸GASA结构域的分泌型多肽, 在植物的生长发育过程中发挥重要的调控作用。当前, 在拟南芥中已有15个GASA家族成员被成功鉴定(Fan等2017)。Roxrud等(2007)研究表明, *GASA4*基因的启动子在茎尖区以及发育中的花和胚中具有活性。*gasa4*突变体的种子大小和质量均低于野生型, 但突变体分枝较多, 因而种子的总产量高于野生型。*GASA4*过表达株系的种子大小、质量和产量随着*GASA4*表达水平的升高而增加, 说明*GASA4*可以正调控种子大小和种子产量。拟南芥*GASA10*基因编码GAST1样蛋白, 该蛋白为细胞壁蛋白, 在发育的花药和种子中表达量较高。过表达*GASA10*导致角果变短、种子数量减少, 而*gasa10*突变体的表型没有明显变化。*GASA10*蛋白可能通过调节细胞壁特定部位的羟基自由基水平, 调节细胞壁伸长, 进而参与角果的发育(Trapalis等2017)。*GASA*基因表达除了受赤霉素的调控, 还受BR、生长素和脱落酸等植物激素的调节, 说明该基因家族可能广泛参与调控植物激素信号转导网络(钟春梅和王小菁2016)。

#### 1.5 脱落酸

脱落酸在植物种子成熟和休眠中起主导作用, 还可以调节种子贮藏蛋白和脂类的合成, 提高植物对非生物胁迫的耐受性, 抑制种子过早萌发, 因而在植物的生长发育过程中发挥着重要作用(Yan和Chen 2017; Tuan等2018; Vishal和Kumar 2018)。*ABA2* (*ABSCISIC ACID DEFICIENT2*)是脱落酸生物合成的关键基因, 编码一种短链脱氢酶/还原酶。Cheng等(2014)研究发现, 与野生型相比, 拟南芥*aba2-1*缺失突变体的种子大小和种子质量显著增加, 胚细胞数目增多, 细胞增大, 但胚乳细胞化延迟, 说明脱落酸通过影响拟南芥胚乳细胞化的时间负调控种子大小。在*aba2-1*缺失突变体中, *SHB1*的RNA积累显著上调; 施加外源脱落酸则降低*SHB1*的RNA积累, 说明脱落酸负调节*SHB1*表达。*aba2*与种子较小的*shb1*突变体杂交得到的双突变体种子

大小、外形与*shb1*突变体的种子一致,说明*ABA2*可能通过*SHB1*调节种子发育。此外,*ABI5* (*ABSCISIC ACID-INSENSITIVE5*, 脱落酸不敏感因子5基因)参与脱落酸信号转导,其RNA积累在*aba2-1*突变体中显著降低,*abi5*缺失突变体表现为种子变大的表型。*SHB1*的RNA积累在*abi5*功能缺失或功能获得突变体的角果中显著升高或降低。研究发现,*ABI5*在体内与*SHB1*的启动子结合进行表达,*ABA2*可能通过调控内源脱落酸的合成影响*ABI5*活性,而*ABI5*进一步负调节*SHB1*的表达(Cheng等2014;图1)。*ABI3*是脱落酸信号转导的重要调节因子,在种子发育后期发挥重要作用(Dekkers等2016)。*abi3*缺失突变体的成熟种子为绿色,其种子内的叶绿素含量升高并且影响种子的储存寿命,说明*ABI3*在种子成熟过程中发挥着重要作用(Clerkx等2003)。*RK2D/SnRK2.2*、*SRK2E/SnRK2.6/OST1*和*SRK2I/SnRK2.3*是拟南芥中由脱落酸激活的SNF1相关蛋白激酶2 (SNF1-related protein kinases2, SnRK2),在种子发育和萌发过程中主要在细胞核中表达。*srk2d srk2e srk2i*三基因缺失突变体对脱水反应敏感,其种子中脱落酸含量升高。三种蛋白激酶的破坏导致脱落酸抑制基因表达上调和脱落酸诱导基因表达下调,这些基因表达水平的改变导致种子发育过程中休眠的丧失和严重的生长缺陷,说明SnRK2成员在种子发育和休眠中具有一定的功能(Nakashima等2009)。

*MYB37*属于拟南芥R2R3-MYB亚群14的一个转录因子,*MYB37*过表达对所有主要脱落酸反应均呈现外源脱落酸超敏表型,包括脱落酸诱导的种子萌发抑制、子叶绿化和幼苗早期生长,以及脱落酸诱导的气孔关闭和抑制气孔开放等。研究表明,*MYB37*过表达株系开花延迟,对干旱的耐受性提高,因而其茎高、茎重和生物量均显著高于野生型。与野生型相比,*MYB37*过表达株系的角果较多但种子大小不变,种子产量增加,说明*MYB37*在种子产量的调节中起着积极作用(Yu等2016)。拟南芥*DA1*基因编码一种预测的泛素受体蛋白,其表达受脱落酸诱导,但是*dal-1*突变体的幼苗和根系生长、种子萌发等对脱落酸抑制不敏感。与野生型相比,*dal-1*突变体的种子和器官明显增大,其种子

质量为野生型的1.32倍,胚珠和种子的体积、胚的大小以及子叶的面积也显著增加,并且突变体单株的种子产量相应提高(Li等2008b)。上述结果说明脱落酸可能是决定植物最终器官大小的一个重要因素。目前关于脱落酸调控种子大小和发育的研究相对较少,但对植物种子大小和发育的调控研究仍具有一定启发和补充。以上几种激素相关调控种子大小和发育的关键基因及其相应的功能详见表1。

## 2 miRNA对种子发育的调控作用

miRNA是一类内源性非编码单链小RNA,由20~25个核苷酸组成,与植物的生长发育密切相关,在真核生物的基因转录和转录后调控中发挥重要作用(Jiang等2019)。基因表达变化在种子发育过程中发挥着重要作用,miRNA作为关键的转录后调控因子,调控众多与种子发育相关基因的表达。miRNA已被证实参与多种植物种子发育的调控过程,其参与种子发育的主要方式有BR信号途径、生长素信号途径、脱落酸信号途径、淀粉合成、抗氧化作用、细胞生长等(龚淑敏等2015)。近年来,随着高通量测序、基因芯片、大规模平行测序、生物信息学等技术的发展,越来越多与种子发育相关的miRNA在拟南芥、小麦、玉米(*Zea mays*)、水稻等多种植物中得到鉴定。这些与种子发育相关的miRNA与它们的靶基因一起构成了植物种子发育调控网络中不可或缺的一部分(魏俊等2017)。

### 2.1 miRNA在种子发育过程中的调控作用

*DCL1* (*DICER-LIKE1*)编码一个含有RNaseIII结构域的蛋白质,该蛋白定位于细胞核,是miRNA生物合成所必需的,缺乏*DCL1*的拟南芥在胚发育早期即停止发育。Nodine和Bartel (2010)研究发现,*dcl1*突变体球形胚阶段(约32个细胞)有接近50个miRNA靶点过表达;八细胞胚中表达量最高的为miR156的2个靶点——SPL10和SPL11 (Squamosa promoter-binding protein, Squamosa启动子结合蛋白)转录因子。当miR156表达被抑制时,其靶基因*SPL10*和*SPL11*表达上调,并诱导种子发育后期表达基因的提前表达。miR156可在早期胚的分化阶段通过调控*SPL10*和*SPL11*的表达阻止分化、促进

转录因子的提前表达,从而实现胚的正常发育。

Han等(2014)在小麦中鉴定到15个已知的miRNA和55个新的miRNA,两者分别有4个miRNA和22个miRNA在发育的种子中优先表达,表明它们可能参与小麦种子发育和代谢的调控。从花后5 d (5 DAF)到花后20 d (20 DAF), miR160和miR164的丰度随着小麦种子的发育逐渐增加,而miR169的丰度下降,说明它们在小麦种子不同发育阶段发挥协调作用。miR160和miR164分别靶向生长素响应因子ARF和NAC (NAM, AFAT, and CUC),从而调控种子胚的形态建成、细胞分裂分化等; miR169可通过靶向CCAAT-box转录因子来调控种子胚的发育。Gu等(2013)利用高通量测序技术对玉米胚乳发育过程中的miRNA进行鉴定,得到95个已知miRNA和18个新的miRNA,其中miR160和miR167在胚乳发育后期分别下调和上调表达,并通过靶向ARF调控胚乳发育。

Huang等(2013)研究发现, miR156、miR158、miR159、miR166、miR167和miR172是控制油菜种子发育和成熟的主要因子,它们在油菜种子发育过程中起着关键作用。miR156家族的大多数成员主要在子叶中表达,其表达量随着种子的成熟而稳定增加。同时, miR156在胚乳和种皮发育前期特异性表达,之后逐渐下降。miR167是种子发育过程中丰度最高的miRNA之一,它在种皮和胚乳中优先表达,可能对种皮发育具有一定的调控作用。miR5801优先在胚、特别是在子叶中表达,并且随着种子成熟表达量显著增加。靶基因预测发现, miR5801靶向调控拟南芥同系物DME (DEMETER)/AT1G16900 (sugar binding/transferase, 糖结合/转移酶),通过调控DME或DME-like基因参与种子发育、成熟和萌发过程中基因的表现遗传调控。

## 2.2 miRNA在种子储藏物质积累过程中的调控作用

Meng等(2013)鉴定了小麦种子发育过程中的miRNA,发现104个miRNA可能参与调控小麦籽粒的灌浆,其中SnRK1作为miR1211的潜在靶点在高等植物的基因表达和碳水化合物代谢的信号转导级联反应中发挥作用。此外, Ta-miR004-1-5p (*T. aestivum* miR004-1-5p)与淀粉积累呈负相关。Li等

(2016)对玉米籽粒发育过程中的miRNA进行全基因组鉴定,发现miR167和miR528参与玉米营养储藏过程中的代谢和胁迫反应,而miR159、miR164、miR166、miR171、miR390、miR399和miR529通过参与转录调控和形态发生在玉米籽粒胚的发育中起作用。研究表明,麻风树种子中Jcu-miR001与Jcu-miR007可通过靶向LPAT (*1-lacyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase*, 1-酰基-sn-甘油-3-磷酸酰基转移酶基因)参与膜磷脂和贮存脂类的生物合成和脂类积累(Galli等2014)。miR167在亚麻荠 (*Camelina sativa*)中的靶基因为ARF8,在种子特异性启动子作用下,过表达miRNA167A (miR167OE)可改变亚麻荠种子中脂肪酸的组成,使得 $\alpha$ -亚麻酸含量降低,但亚油酸含量升高,同时会增加种子大小(Na等2019)。染色质免疫共沉淀结合转录组分析结果表明, CsARF8与亚麻荠*bZIP67*和*ABI3*基因的启动子结合,直接或通过ABI3-bZIP 12途径调控*CsFAD3* (*fatty acid desaturase3*, 脂肪酸去饱和酶3基因)的表达,进而影响 $\alpha$ -亚麻酸的积累(Na等2019)。miRNA在种子发育过程中对胚、胚乳和种皮发育及物质积累等方面的调控作用详见表2。

## 3 miRNA调控植物激素信号转导

研究发现,许多miRNA参与调控植物激素信号转导过程。miR397是高度保守的miRNA,通过靶向参与BR信号转导的LAC基因(*laccase*, 漆酶基因)调控水稻的种子大小和产量(图1)。过表达miR397使水稻种子增大、促进圆锥花序分枝和增加主穗粒数,从而提高水稻产量(Zhang等2013b)。miR167在玉米种子发育过程中高表达,其可能通过调控生长素的感应和信号转导在种子发育过程中发挥作用(Kang等2012)。NAC基因参与植物发育的生长素信号转导、防御等过程,可以通过调节衰老提高小麦种子中蛋白质、锌、铁等的含量(Uauy等2006)。miR164通过靶向NAC转录因子,调节植物内部生长素平衡(Peng等2014;图1)。Jiang等(2019)研究发现, *mOsNAC2*过表达导致发芽种子中的内源脱落酸含量升高, *mOsNAC2*过表达株系的耐旱性和耐盐性均明显高于野生型。*mOsNAC2*过表达株系中脱落酸生物合成基因*OsNCED1* (*9-cis ep-*

表2 miRNA对种子发育过程中胚、胚乳和种皮发育以及物质积累等方面的调控作用  
Table 2 Regulatory effect of miRNA on the development of embryo, endosperm and seed coat and material accumulation during seed development

miRNA名称	靶基因	功能	参考文献
Jcu-miR001/007	LPAT	膜磷脂和贮存脂类生物合成	Galli等2014
Jcu-miR159/472	R和HR蛋白	生物和非生物胁迫应激反应	Galli等2014
miR156	SPL10、11	胚发育过程中的细胞分裂和分化	Nodine和Bartel 2010; Han等2014
GhmiR157	SPL	调控MADS-box转录因子, 影响生长素信号转导, 调控花器官生长和胚珠产生	Liu等2017
miR156b/157a	SPL9	负调节纤维延长	Wang等2017
miR159	MYB33、101、65, GAMYB	调节种子对脱落酸的敏感性, 参与种子萌发的调控	Nonogaki 2010; Das等2015
miR160	ARF10、16、17	生长素与其他植物激素信号转导	Han等2014; Gu等2013
miR163	PXMT1	光响应, 促进种子萌发和初生根伸长	Chung等2016
miR164	NAC	生长素信号转导和防御, 调控胚、营养器官和花器官发育, 调节衰老, 提高微量元素含量	Han等2014
miR164b	NAC2	过表达 <i>OsNAC2</i> 可改善植株结构, 产生更长的圆锥花序, 同时大幅提高水稻产量	Jiang等2018
miR166	HD-ZIPIII	影响细胞分裂分化和结节发育	Zhang等2013a
miR167	ARF8	生长素信号转导, 种子形态发生, 物质储藏, 胁迫响应, 调节种子大小	Gu等2013; Zabala等2012; Li等2016
miR167A	ARF8	调节脂肪酸组成和种子大小	Na等2019
miR169	CCAAT-box转录因子	调节胚和根发育及开花时间	Han等2014; Wang等2017
miR172	CA486144、CA626451	淀粉合成负调控因子	Kang等2013
miR1042	TC383018	调控细胞数量, 影响器官大小	Guo等2010
miR1137	TC418521	调节籽粒大小	Lizana等2010
miR1211	SnRK1	碳水化合物代谢的信号转导级联和高等植物基因表达调控	Martinez-Barajas等2011
miR1512	copine I型钙调素结合蛋白	种皮形态发生	Zabala等2012
miR2948	TUA2、IAA14	影响棉花胚珠和纤维发育	Wang等2017
miR390	ARF2、3、4	调节HB33介导的种子萌发和侧根生长, 调节种子对脱落酸的敏感性	Marin等2010
miR396	GRF	调节组织器官的生长	Liebsch和Palatnik 2020
miR397	LAC	调控种子大小和产量	Zhang等2013b; Wang等2017
miR402	DML3	调节种子萌发、胚及胚乳发育	Nonogaki 2010
miR528	AFP	营养储藏过程中应激反应的调控	Li等2016
miR5801	DME、AT1G16900	调节胚和胚乳发育	Huang等2013
miR5807	PPR	调节种皮、胚和胚乳发育	Huang等2013
miR828a	MYB2、3、12	负调节棉纤维延长	Wang等2017

AFP: antifreeze protein (抗冻蛋白); ARF: auxin response factor (生长素响应因子); CA486144和CA626451: AP2 domain transcription factors (AP2结构域转录因子); DME: *Arabidopsis* DEMETER (拟南芥DEMETER); AT1G16900: sugar binding/transferase (糖结合/转移酶); DML3: DEMETER-Like protein3 (DEMETER样蛋白); GRF: growth regulation factor (生长调

表2 (续)

节因子); HR蛋白: hypersensitive response protein (超敏反应蛋白); IAA: indoleacetic acid (吲哚乙酸); LAC: laccase (漆酶); LPAT: 1-acyl-*sn*-glycerol-3-phosphate acyltransferase (1-酰基-*sn*-甘油-3-磷酸酰基转移酶); NAC: NAM, AFAT, and CUC; PGK: phosphoglycerate kinase (磷酸甘油酸激酶); PPR: *Arabidopsis* pentatricopeptide repeat-containing protein (拟南芥PPR蛋白); PXMT1: paraxanthine methyltransferase (二甲基黄嘌呤转移酶); R蛋白: plant disease resistance protein (植物抗病蛋白); SnRK1: SNF1-related protein kinase regulatory subunit  $\beta$ -1 (SNF1相关蛋白激酶 $\beta$ 亚单位); SPL: Squamosa promoter-binding protein (Squamosa启动子结合蛋白); TUA2:  $\alpha$  tubulin2 ( $\alpha$ 维管蛋白2)。

oxycarotenoid dioxygenase, 9-顺式环氧类胡萝卜素双加氧酶基因)和*OsNCED3*的表达显著上调, 应激反应基因*OsP5CS1*、*OsLEA3* (*late embryogenesis abundant protein*, 胚后期发生丰富蛋白基因)和*Os-RAB16* (*RAB like protein*, RAB样蛋白基因)的表达水平也显著提高, 证实*OsNAC2*通过脱落酸途径在水稻抗旱、耐盐中起着积极的调节作用。

Han等(2014)研究证实, miR160和miR164分别通过其靶基因*ARF*和*NAC*调控生长素信号转导, 进而参与种子发育。miR169通过靶基因*NF-YA*调控拟南芥种子对脱落酸的信号转导, 过表达*NF-YA*可降低种子对脱落酸信号的敏感性。已有研究表明, miR159的表达受赤霉素和脱落酸共同调控。miR159的靶基因为*MYB33*和*MYB101*, *MYB*在响应脱落酸信号转导中具有重要作用, 是脱落酸信号转导的正调控因子。在拟南芥中过表达miR159可抑制*MYB33*和*MYB101*转录, 导致种子对脱落酸信号不敏感(Reyes和Chua 2007; 图1)。进一步研究发现, miR159在发育不良的水稻籽粒中表达量较高, 说明miR159可能通过调控脱落酸信号转导来影响水稻籽粒的灌浆(Peng等2014)。此外, miR159也通过调控赤霉素MYB参与赤霉素信号转导(Das等2015)。miR9678在小麦盾片、发育中的种子和萌发的胚中特异表达, 脱落酸信号蛋白能与miR9678前体的启动子结合并激活其表达, 说明miR9678通过调节赤霉素/脱落酸信号转导影响种子萌发(Guo等2018)。另外还有许多miRNA参与植物激素信号转导的调控过程, 由于篇幅限制不再一一阐述, 图1列出了部分参与调控植物激素信号转导的miRNA。

综上所述, miRNA可促进谷类作物种子的灌浆和油类作物种子的脂质储藏, 同时可提高种子活力, 这些均有利于农业生产。因此, 深入开展miRNA与种子发育相关的研究工作有助于更好地

发挥其在调控种子生长发育中的作用, 并将其应用于生产实践。

#### 4 总结和展望

植物种子大小受到珠被、胚乳和胚的协同控制。当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、全基因组关联研究等方法。现代生物技术和系统生物学方法也有助于促进科研人员更快地解析种子大小和发育调控的分子机制。在农业生产中, 探索植物种子大小和发育调控的分子机制并筛选出相应的基因应用于育种实践可以有效提高单粒种子质量和作物产量。然而, 由于种子大小与种子数量经常呈反比, 加上很多已经被鉴定出的基因或QTL并不能直接用于已有品种的改造, 对促进分子设计育种和提高作物产量的作用并不大。因此, 阐明植物种子大小和发育调控的分子机制将为作物高产育种提供重要的理论基础。

植物对种子大小和发育的调控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。植物激素在植物生长和发育的整个生命周期中都发挥着至关重要的作用, 研究发现许多调控植物种子发育相关的基因通过参与植物激素的生物合成、转运或信号传输调控胚、胚乳和种皮的发育, 进而影响植物种子的发育(图1)。综上所述, 内源和外源BR均能促进种子增大, CTK生物合成途径或信号转导途径的基因突变也将导致植物种子增大, 生长素主要通过*ARF*参与植物种子大小的调控。miRNA涉及胚、胚乳、种皮发育乃至种子内物质变化、积累、储藏等方面的调控作用。然而, 植物激素调控的内部网络信号极其复杂, 各个激素信号通路之间并不相互独立, 而是有许多的共同靶标位点, 如生长素信号转导途

径和BR信号转导途径(*BZR1*与*ARF2*)、CTK信号途径(*MINI3*与*CKX2*)相互关联, miRNA通过脱落酸信号途径、生长素信号途径、BR信号途径参与多种植物种子发育的调控过程(图1)。尽管如此, 植物种子大小和发育调控的分子机制仍不清楚, 目前尚不能阐明珠被、胚乳和胚发育的相互协调机制。种子大小是重要的农艺性状, 复杂的激素调控网络在种子发育的过程中发挥着极其重要的作用。随着技术的进步, 研究人员将进一步加快解析植物种子大小和发育调控的分子机制, 这对未来应用于生产实践具有积极的促进作用。

### 参考文献(References)

- Adamski NM, Anastasiou E, Eriksson S, et al (2009). Local maternal control of seed size by *KLUH/CYP78A5*-dependent growth signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106 (47): 20115–20120
- Ahanger MA, Mir RA, Alyemeni MN, et al (2020). Combined effects of brassinosteroid and kinetin mitigates salinity stress in tomato through the modulation of antioxidant and osmolyte metabolism. *Plant Physiol Bioc*, 147: 31–42
- Ahmed MM, Huang C, Shen C, et al (2020). Map-based cloning of *qBWT-c12* discovered brassinosteroid-mediated control of organ size in cotton. *Plant Sci*, 291: 110315
- Ashikari M, Sakakibara H, Lin S, et al (2005). Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*, 309 (5735): 741–745
- Aya K, Hobo T, Sato-Izawa K, et al (2014). A novel AP2-type transcription factor, *SMALL ORGAN SIZE1*, controls organ size downstream of an auxin signaling pathway. *Plant Cell Physiol*, 55 (5): 897–912
- Bartrina I, Jensen H, Novák O, et al (2017). Gain-of-function mutants of the cytokinin receptors *AHK2* and *AHK3* regulate plant organ size, flowering time and plant longevity. *Plant Physiol*, 173 (3): 1783–1797
- Bartrina I, Otto E, Strnad M, et al (2011). Cytokinin regulates the activity of reproductive meristems, flower organ size, ovule formation, and thus seed yield in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 23 (1): 69–80
- Che R, Tong H, Shi B, et al (2015). Control of grain size and rice yield by *GL2*-mediated brassinosteroid responses. *Nat Plants*, 2: 15195
- Cheng ZJ, Zhao XY, Shao XX, et al (2014). Abscisic acid regulates early seed development in *Arabidopsis* by *ABI5*-mediated transcription of *SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE1*. *Plant Cell*, 26 (3): 1053–1068
- Choe S, Fujioka S, Noguchi T, et al (2001). Overexpression of *DWARF4* in the brassinosteroid biosynthetic pathway results in increased vegetative growth and seed yield in *Arabidopsis*. *Plant J*, 26 (6): 573–582
- Chung PJ, Park BS, Wang H, et al (2016). Light-inducible miR163 targets *PXMT1* transcripts to promote seed germination and primary root elongation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 170 (3): 1772–1782
- Clerkx EJM, Blankestijn-De Vries H, Ruys GJ, et al (2003). Characterization of *green seed*, an enhancer of *abi3-1* in *Arabidopsis* that affects seed longevity. *Plant Physiol*, 132 (2): 1077–1084
- Das SS, Karmakar P, Nandi AK, et al (2015). Small RNA mediated regulation of seed germination. *Front Plant Sci*, 6: 828
- Dekkers BJW, He H, Hanson J, et al (2016). The *Arabidopsis DELAY OF GERMINATION 1* gene affects *ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (ABI5)* expression and genetically interacts with *ABI3* during *Arabidopsis* seed development. *Plant J*, 85 (4): 451–465
- Du L, Li N, Chen L, et al (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
- Fan S, Zhang D, Zhang L, et al (2017). Comprehensive analysis of *GASA* family members in the *Malus domestica* genome: identification, characterization, and their expressions in response to apple flower induction. *BMC Genomics*, 18: 827
- Galli V, Guzman F, de Oliveira LFV, et al (2014). Identifying microRNAs and transcript targets in *Jatropha* seeds. *PLOS One*, 9 (2): e83727
- Geng J, Li L, Lv Q, et al (2017). *TaGW2-6A* allelic variation contributes to grain size possibly by regulating the expression of cytokinins and starch-related genes in wheat. *Planta*, 246 (6): 1153–1163
- Gong SM, Ding YF, Zhu C (2015). Role of miRNA in plant seed development. *Hereditas Beijing*, 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]
- Gu Y, Liu Y, Zhang J, et al (2013). Identification and characterization of microRNAs in the developing maize endosperm. *Genomics*, 102 (5–6): 472–478
- Guilfoyle TJ, Hagen G (2007). Auxin response factors. *Curr Opin Plant Biol*, 10 (5): 453–460
- Gulyaeva LF, Kushlinskiy NE (2016). Regulatory mechanisms of microRNA expression. *J Transl Med*, 14: 143
- Guo G, Liu X, Sun F, et al (2018). Wheat miR9678 affects seed germination by generating phased siRNAs and modulating abscisic acid/gibberellin signaling. *Plant Cell*, 30

- (4): 796–814
- Guo M, Rupe MA, Dieter JA, et al (2010). *Cell Number Regulator1* affects plant and organ size in maize: implications for crop yield enhancement and heterosis. *Plant Cell*, 22 (4): 1057–1073
- Han R, Jian C, Lv J, et al (2014). Identification and characterization of microRNAs in the flag leaf and developing seed of wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics*, 15: 289
- Hao J, Yin Y, Fei SZ (2013). Brassinosteroid signaling network: implications on yield and stress tolerance. *Plant Cell Rep*, 32 (7): 1017–1030
- Hirano K, Yoshida H, Aya K, et al (2017). SMALL ORGAN SIZE 1 and SMALL ORGAN SIZE 2/DWARF AND LOW-TILLERING form a complex to integrate auxin and brassinosteroid signaling in rice. *Mol Plant*, 10 (4): 590–604
- Hu S, Sanchez DL, Wang C, et al (2017). Brassinosteroid and gibberellin control of seedling traits in maize (*Zea mays* L.). *Plant Sci*, 263: 132–141
- Hu Z, Lu SJ, Wang MJ, et al (2018). A novel QTL *qTGW3* encodes the GSK3/SHAGGY-Like kinase OsGSK5/OsSK41 that interacts with OsARF4 to negatively regulate grain size and weight in rice. *Mol Plant*, 11 (5): 736–749
- Huang D, Koh C, Feurtado JA, et al (2013). MicroRNAs and their putative targets in *Brassica napus* seed maturation. *BMC Genomics*, 14: 140
- Huang XQ, He RQ, Liao XY, et al (2014). Effect of exogenous gibberellin on reserve accumulation during the seed filling stage of oilseed rape. *Genet Mol Res*, 13 (2): 2827–2839
- Ishimaru K, Hirotsu N, Madoka Y, et al (2013). Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *TGW6* enhances rice grain weight and increases yield. *Nat Genet*, 45 (6): 707–711
- Jameson PE, Song J (2016). Cytokinin: a key driver of seed yield. *J Exp Bot*, 67 (3): 593–606
- Jiang D, Chen W, Dong J, et al (2018). Overexpression of miR164b-resistant *OsNAC2* improves plant architecture and grain yield in rice. *J Exp Bot*, 69 (7): 1533–1543
- Jiang D, Zhou L, Chen W, et al (2019). Overexpression of a microRNA-targeted NAC transcription factor improves drought and salt tolerance in rice via ABA-mediated pathways. *Rice*, 12: 76
- Jiang WB, Huang HY, Hu YW, et al (2013). Brassinosteroid regulates seed size and shape in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 162 (4): 1965–1977
- Kakimoto T (2003). Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 605–627
- Kang GZ, Xu W, Liu GQ, et al (2013). Comprehensive analysis of the transcription of starch synthesis genes and the transcription factor RSR1 in wheat (*Triticum aestivum*) endosperm. *Genome*, 56: 115–122
- Kang M, Zhao Q, Zhu D, et al (2012). Characterization of microRNAs expression during maize seed development. *BMC Genomics*, 13: 360
- Li D, Liu Z, Gao L, et al (2016). Genome-wide identification and characterization of microRNAs in developing grains of *Zea mays* L. *PLOS One*, 11 (4): e0153168
- Li D, Wang L, Liu X, et al (2013a). Deep sequencing of maize small RNAs reveals a diverse set of microRNA in dry and imbibed seeds. *PLOS One*, 8 (1): e55107
- Li J, Nie X, Tan JLH, et al (2013b). Integration of epigenetic and genetic controls of seed size by cytokinin in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (38): 15479–15484
- Li J, Wen J, Lease KA, et al (2002). BAK1, an *Arabidopsis* LRR receptor-like protein kinase, interacts with BRI1 and modulates brassinosteroid signaling. *Cell*, 110 (2): 213–222
- Li N, Xu R, Li Y (2019). Molecular networks of seed size control in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 70: 435–463
- Li WX, Oono Y, Zhu J, et al (2008a). The *Arabidopsis* NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and posttranscriptionally to promote drought resistance. *Plant Cell*, 20 (8): 2238–2251
- Li Y, Zheng L, Corke F, et al (2008b). Control of final seed and organ size by the *DA1* gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Gene Dev*, 22 (10): 1331–1336
- Liebsch D, Palatnik JF (2020). MicroRNA miR396, GRF transcription factors and GIF co-regulators: a conserved plant growth regulatory module with potential for breeding and biotechnology. *Curr Opin Plant Biol*, 53: 31–42
- Liu J, Hua W, Hu Z, et al (2015a). Natural variation in *ARF18* gene simultaneously affects seed weight and silique length in polyploid rapeseed. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (37): E5123–E5132
- Liu L, Tong H, Xiao Y, et al (2015b). Activation of *Big Grain1* significantly improves grain size by regulating auxin transport in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (35): 11102–11107
- Liu N, Tu L, Wang L, et al (2017). MicroRNA 157-targeted *SPL* genes regulate floral organ size and ovule production in cotton. *BMC Plant Biol*, 17: 7
- Liu S, Hua L, Dong S, et al (2015c). OsMAPK6, a mitogen-activated protein kinase, influences rice grain size and biomass production. *Plant J*, 84 (4): 672–681
- Lizana XC, Riegel R, Gomez LD, et al (2010). Expansins expression is associated with grain size dynamics in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Exp Bot*, 61 (4): 1147–1157

- Luo M, Dennis ES, Berger F, et al (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
- Marin E, Jouannet V, Herz A, et al (2010). miR390, *Arabidopsis* *TAS3* tasiRNAs, and their *AUXIN RESPONSE FACTOR* targets define an autoregulatory network quantitatively regulating lateral root growth. *Plant Cell*, 22 (4): 1104–1117
- Martínez-Barajas E, Delatte T, Schluepmann H, et al (2011). Wheat grain development is characterized by remarkable trehalose 6-phosphate accumulation pregrain filling: tissue distribution and relationship to SNF1-related protein kinase1 activity. *Plant Physiol*, 156: 373–381
- McAdam EL, Meitzel T, Quittenden LJ, et al (2017). Evidence that auxin is required for normal seed size and starch synthesis in pea. *New Phytol*, 216 (1): 193–204
- Meng F, Liu H, Wang K, et al (2013). Development-associated microRNAs in grains of wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biol*, 13: 140
- Morinaka Y, Sakamoto T, Inukai Y, et al (2006). Morphological alteration caused by brassinosteroid insensitivity increases the biomass and grain production of rice. *Plant Physiol*, 141 (3): 924–931
- Mu J, Tan H, Hong S, et al (2013). *Arabidopsis* transcription factor genes *NF-YA1*, 5, 6, and 9 play redundant roles in male gametogenesis, embryogenesis, and seed development. *Mol Plant*, 6 (1): 188–201
- Na GN, Mu X, Grabowski P, et al (2019). Enhancing microRNA167A expression in seed decreases the  $\alpha$ -linolenic acid content and increases seed size in *Camelina sativa*. *Plant J*, 98 (2): 346–358
- Nakashima K, Fujita Y, Kanamori N, et al (2009). Three *Arabidopsis* SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1 and SRK2I/SnRK2.3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy. *Plant Cell Physiol*, 50 (7): 1345–1363
- Nodine MD, Bartel DP (2010). MicroRNAs prevent precocious gene expression and enable pattern formation during plant embryogenesis. *Gene Dev*, 24 (23): 2678–2692
- Noguero M, Le Signor C, Vernoud V, et al (2015). *DASH* transcription factor impacts *Medicago truncatula* seed size by its action on embryo morphogenesis and auxin homeostasis. *Plant J*, 81 (3): 453–466
- Nonogaki H (2010). microRNA gene regulation cascades during early stages of plant development. *Plant Cell Physiol*, 51 (11): 1840–1846
- Ohto MA, Floyd SK, Fischer RL, et al (2009). Effects of APETALA2 on embryo, endosperm, and seed coat development determine seed size in *Arabidopsis*. *Sex Plant Reprod*, 22 (4): 277–289
- Oki K, Inaba N, Kitagawa K, et al (2009). Function of the  $\alpha$  subunit of rice heterotrimeric G protein in brassinosteroid signaling. *Plant Cell Physiol*, 50 (1): 161–172
- Okushima Y, Overvoorde PJ, Arima K, 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
- Pagnussat GC, Alandete-Saez M, Bowman JL, et al (2009). Auxin-dependent patterning and gamete specification in the *Arabidopsis* female gametophyte. *Science*, 324 (5935): 1684–1689
- Peng T, Sun H, Qiao M, et al (2014). Differentially expressed microRNA cohorts in seed development may contribute to poor grain filling of inferior spikelets in rice. *BMC Plant Biol*, 14: 196
- Petrásek J, Friml J (2009). Auxin transport routes in plant development. *Development*, 136 (16): 2675–2688
- Planas-Riverola A, Gupta A, Betegón-Putze I, et al (2019). Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development*, 146 (5): dev151894
- Reyes JL, Chua NH (2007). ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 49 (4): 592–606
- Riefler M, Novak O, Strnad M, et al (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, et al (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
- Segami S, Takehara K, Yamamoto T, et al (2017). Overexpression of *SRS5* improves grain size of brassinosteroid-related dwarf mutants in rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Sci*, 67 (4): 393–397
- Shi L, Song J, Guo C, et al (2019). A CACTA-like transposable element in the upstream region of *BnaA9.CYP78A9* acts as an enhancer to increase silique length and seed weight in rapeseed. *Plant J*, 98 (3): 524–539
- Sun Y, Wang C, Wang N, et al (2017). Manipulation of *Auxin Response Factor 19* affects seed size in the woody perennial *Jatropha curcas*. *Sci Rep*, 7: 40844
- Tanaka A, Nakagawa H, Tomita C, et al (2009). *BRASSINOSTEROID UPREGULATED1*, encoding a helix-loop-helix

- protein, is a novel gene involved in brassinosteroid signaling and controls bending of the lamina joint in rice. *Plant Physiol*, 151 (2): 669–680
- Tong H, Xiao Y, Liu D, et al (2014). Brassinosteroid regulates cell elongation by modulating gibberellin metabolism in rice. *Plant Cell*, 26 (11): 4376–4393
- Trapalis M, Li SF, Parish RW (2017). The *Arabidopsis* *GASA10* gene encodes a cell wall protein strongly expressed in developing anthers and seeds. *Plant Sci*, 260: 71–79
- Tuan PA, Kumar R, Rehal PK, et al (2018). Molecular mechanisms underlying abscisic acid/gibberellin balance in the control of seed dormancy and germination in cereals. *Front Plant Sci*, 9: 668
- Uauy C, Distelfeld A, Fahima T, et al (2006). A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science*, 314 (5803): 1298–1301
- Vishal B, Kumar PP (2018). Regulation of seed germination and abiotic stresses by gibberellins and abscisic acid. *Front Plant Sci*, 9: 838
- Wang A, Garcia D, Zhang H, et al (2010). The VQ motif protein IKU1 regulates endosperm growth and seed size in *Arabidopsis*. *Plant J*, 63 (4): 670–679
- Wang C, Wang G, Gao Y, et al (2020). A cytokinin-activation enzyme-like gene improves grain yield under various field conditions in rice. *Plant Mol Biol*, 102 (4–5): 373–388
- Wang M, Sun R, Li C, et al (2017). microRNA expression profiles during cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fiber early development. *Sci Rep*, 7: 44454
- Wang ZY, Bai MY, Oh E, et al (2012). Brassinosteroid signaling network and regulation of photomorphogenesis. *Annu Rev Genet*, 46: 699–722
- Wang ZY, Seto H, Fujioka S, et al (2001). BRI1 is a critical component of a plasma-membrane receptor for plant steroids. *Nature*, 410 (6826): 380–383
- Wei J, Lu XJ, Zhang XL, et al (2017). Functions of microRNA in seed development, dormancy and germination processes. *Hereditas Beijing*, 39 (1): 14–21 (in Chinese with English abstract) [魏俊, 陆秀君, 张晓林等(2017). MicroRNA在种子发育、休眠与萌发过程中的作用. *遗传*, 39 (1): 14–21]
- Weng J, Gu S, Wan X, et al (2008). Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Res*, 18 (12): 1199–1209
- Werner T, Motyka V, Laucou V, et al (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
- Werner T, Schmulling T (2009). Cytokinin action in plant development. *Curr Opin Plant Biol*, 12 (5): 527–538
- Xiao Y, Liu D, Zhang G, et al (2019). *Big Grain3*, encoding a purine permease, regulates grain size via modulating cytokinin transport in rice. *J Integr Plant Biol*, 61 (5): 581–597
- Yan A, Chen Z (2017). The pivotal role of abscisic acid signaling during transition from seed maturation to germination. *Plant Cell Rep*, 36 (5): 689–703
- Ye J, Liu P, Zhu C, et al (2014). Identification of candidate genes *JcARF19* and *JcIAA9* associated with seed size traits in *Jatropha*. *Funct Integr Genomic*, 14 (4): 757–766
- Ye Q, Zhu W, Li L, et al (2010). Brassinosteroids control male fertility by regulating the expression of key genes involved in *Arabidopsis* anther and pollen development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (13): 6100–6105
- Yeh SY, Chen HW, Ng CY, et al (2015). Down-regulation of cytokinin oxidase 2 expression increases tiller number and improves rice yield. *Rice*, 8: 36
- Yu YT, Wu Z, Lu K, et al (2016). Overexpression of the MYB37 transcription factor enhances abscisic acid sensitivity, and improves both drought tolerance and seed productivity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 90 (3): 267–279
- Yuan T, Fujioka S, Takatsuto S, et al (2007). *BEN1*, a gene encoding a dihydroflavonol 4-reductase (DFR)-like protein, regulates the levels of brassinosteroids in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 51 (2): 220–233
- Zabala G, Campos E, Varala KK, et al (2012). Divergent patterns of endogenous small RNA populations from seed and vegetative tissues of *Glycine max*. *BMC Plant Biol*, 12: 177
- Zentella R, Zhang ZL, Park M, et al (2007). Global analysis of DELLA direct targets in early gibberellin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (10): 3037–3057
- Zhang J, Zhang S, Han S, et al (2013a). Deciphering small noncoding RNAs during the transition from dormant embryo to germinated embryo in larches (*Larix leptolepis*). *PLOS One*, 8 (12): e81452
- Zhang YC, Yu Y, Wang CY, et al (2013b). Overexpression of microRNA OsmiR397 improves rice yield by increasing grain size and promoting panicle branching. *Nat Biotechnol*, 31 (9): 848–852
- Zhao B, Li J (2012). Regulation of brassinosteroid biosynthesis and inactivation. *J Integr Plant Biol*, 54 (10): 746–759
- Zhao J, Bai W, Zeng Q, et al (2015). Moderately enhancing cytokinin level by down-regulation of *GhCKX* expression in cotton concurrently increases fiber and seed yield. *Mol Breeding*, 35: 60
- Zheng X, Xiao Y, Tian Y, et al (2020). *PcDWF1*, a pear brass-

- inosteroid biosynthetic gene homologous to *AtDWARF1*, affected the vegetative and reproductive growth of plants. *BMC Plant Biol*, 20: 109
- Zhong CM, Wang XJ (2016). Progress in cysteine-rich gibberellic acid-stimulated *Arabidopsis* protein. *Chin Bull Bot*, 51 (1): 1–8 (in Chinese with English abstract) [钟春梅, 王小菁(2016). 富含半胱氨酸的GASA小分子蛋白研究进展. *植物学报*, 51 (1): 1–8]
- Zhou B, Lin J, Peng W, et al (2012). Dwarfism in *Brassica napus* L. induced by the over-expression of a gibberellin 2-oxidase gene from *Arabidopsis thaliana*. *Mol Breeding*, 29 (1): 115–127
- Zhou B, Peng D, Lin J, et al (2011). Heterologous expression of a gibberellin 2-oxidase gene from *Arabidopsis thaliana* enhanced the photosynthesis capacity in *Brassica napus* L. *J Integr Plant Biol*, 54 (1): 23–32
- Zhou Y, Zhang X, Kang X, et al (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 (2013). Brassinosteroid signaling. *Development*, 140 (8): 1615–1620
- Zhu X, Liang W, Cui X, et al (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