



植物抗坏血酸合成调控研究进展

陈卫芳, 袁伟玲*, 刘志雄, 严承欢, 陈磊夫, 张文格

湖北省农业科学院经济作物研究所, 武汉430064

*通信作者(ywiing2021@hbaas.com)

摘要: 抗坏血酸是一类水溶性小分子化合物, 不仅可以清除植物体内因生物和非生物胁迫产生的活性氧, 提高植物抵抗逆境的能力, 还可以延缓衰老, 调节植物生长。本文对植物抗坏血酸的生理功能、生物合成途径以及相关关键基因、影响抗坏血酸合成的外在因素和内部因子进行简要阐述, 并对植物抗坏血酸未来研究方向进行了展望。

关键词: 抗坏血酸; 生物合成; 生理功能; 转录调控

Research progress on regulation of ascorbic acid synthesis in plant

CHEN Weifang, YUAN Weiling*, LIU Zhixiong, YAN Chenghuan, CHEN Leifu, ZHANG Wenge

Institute of Economic Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China

*Corresponding author (ywiing2021@hbaas.com)

Abstract: Ascorbic acid is a kind of water-soluble small-molecule compound, which can not only remove reactive oxygen species produced by biological and abiotic stress in plants, but improve the ability of plants to resist stress. It can also delay aging and regulate plant growth. In this paper, physiological functions and biosynthesis pathway of ascorbic acid in plants, its related key genes, as well as external and internal factors affecting ascorbic acid synthesis are briefly reviewed. Future research directions of plant ascorbic acid are prospected.

Key words: ascorbic acid; biosynthesis; physiological function; transcriptional regulation

抗坏血酸又名维生素C, 是一种多羟基化合物, 普遍存在于高等植物细胞内, 具有较强的抗氧化作用, 是动植物生存的 necessary 物质。在植物体内, 抗坏血酸可以增强其抗逆能力, 调节其正常生长发育; 对人体而言, 抗坏血酸不仅是人体必需的营养物质, 还可以保护健康细胞, 预防癌症的发生以及用于癌症的辅助治疗(Klener等2020)。而人体内缺失合成抗坏血酸的关键酶, 自身不能合成抗坏血酸, 只能通过食物摄取(如新鲜蔬菜和水果; Paciolla等2019)。因此, 提高蔬菜和水果中抗坏血酸含量具有重要意义。近年来, 植物中抗坏血酸生物合成代谢研究取得了较大进展, 对抗坏血酸的调控成为

研究热点。本文简要论述了植物中抗坏血酸合成调控研究进展。

1 植物中抗坏血酸的生理功能

在植物中, 抗坏血酸是重要的抗氧化剂, 可以清除生物和非生物胁迫产生的活性氧, 如单线态氧、超氧阴离子、羟基自由基、过氧化氢等, 从而保护植物细胞免受活性氧伤害。至今为止, 尚未发现不含抗坏血酸的植物, 说明抗坏血酸对植物正

收稿 2023-01-29 修定 2023-02-22

资助 湖北省科技创新专项重大项目(2019-620-000-001-07)。

常生长发育是必不可少的(Stevens等2007)。几乎所有的植物细胞器都有抗坏血酸,也可稳定存在于质外体、胞质和液泡中(陈坤明等2004)。由于抗坏血酸合成途径中最后一个酶L-半乳糖-1,4-内酯脱氢酶存在于线粒体中(Chatterjee 1973),所以抗坏血酸在线粒体中合成,再通过转运系统转移到其他细胞器中。

抗坏血酸在植物体内可以作为辅酶,维持赖氨酸羟基化酶等酶的反应中心金属离子的还原状态。在光合作用过程中,其一方面可以作为紫黄质脱环氧酶的辅助因子,另一方面作为还原剂辅助抗坏血酸过氧化物酶清除活性氧,保证光合作用正常进行。研究发现,用乙烯利喷施拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)抗坏血酸突变体后,缺失突变体叶片黄化、活性氧积累、叶绿素分解、衰老相关基因表达量较高,而过积累突变体中光合色素含量和抗氧化能力较高,衰老相关基因的表达水平较低,说明抗坏血酸可以通过清除活性氧和抑制衰老基因表达来延缓衰老(Zheng等2020)。同样,在水稻(*Oryza sativa*)中抗坏血酸可以降低衰老基因表达,提高光合能力,增加水稻产量(Yu等2020)。陆地棉(*Gossypium hirsutum*)中*GhVTC1*在纤维快速伸长阶段优先表达,*GhVTC1*的异位表达可以恢复拟南芥*vtc1-1*突变体的矮化表型,说明抗坏血酸在细胞水平上具有促进细胞伸长的作用(Song等2019)。抗坏血酸还可以调节番茄(*Solanum lycopersicum*)中过氧化氢含量,通过调节体内氧化/抗氧化平衡来影响番茄果实成熟(Steelheart等2020)。

2 抗坏血酸合成代谢途径及相关基因

2.1 植物抗坏血酸生物合成途径

目前,植物中报道了4条抗坏血酸生物合成途径。Wheeler等(1998)提出第一条合成途径(D-甘露糖/L-半乳糖途径, D-Man/L-Gal pathway),并得到一系列生理生化、遗传学、分子生物学实验支持,该途径也被认为是抗坏血酸生物合成的主要途径。这一途径的前体底物为葡萄糖,包含10个反应,前6个反应生成有活性的核苷糖,后4步是抗坏血酸合成的专属步骤,且这一合成途径的结构基因均已被克隆和鉴定。Davey等(1999)通过对拟南芥悬浮

细胞饲喂实验,提出抗坏血酸生物合成的半乳糖醛酸途径。Agius等(2003)将草莓(*Fragaria × ananassa*)果实的D-半乳糖醛酸还原酶(GalUR)在拟南芥中异位表达,发现拟南芥叶片抗坏血酸含量显著增加,进一步证实了半乳糖醛酸途径。该途径从甲基-D-半乳糖醛酸开始,到D-半乳糖醛酸、L-半乳糖醛酸、L-半乳糖-1,4-内酯,最终合成抗坏血酸。同年,Wolucka和Van Montagu (2003)发现GDP-甘露糖-3',5'-表型异构酶不仅可以将GDP-D-甘露糖转化为GDP-L-半乳糖,还可以转化为GDP-L-古洛糖,经L-古洛糖-1,4-内酯,最终形成抗坏血酸,因此提出了抗坏血酸合成的古洛糖途径。随后,Lorence等(2004)发现,超量表达肌醇加氧酶后,转基因拟南芥叶片中抗坏血酸含量显著提高,因此提出肌醇合成途径。后续的研究表明,古洛糖途径和肌醇途径只在特定的诱导情况下才表达(图1)。

植物细胞合成的抗坏血酸属于还原态,在抗坏血酸氧化酶和抗坏血酸过氧化物酶的作用下,氧化形成单脱氢抗坏血酸。单脱氢抗坏血酸一方面通过水解生成还原态抗坏血酸和脱氢抗坏血酸,另一方面在存在谷胱甘肽情况下,通过单脱氢抗坏血酸还原酶催化还原,生成还原态抗坏血酸。脱氢抗坏血酸极不稳定,可水解生成2,3-二酮古洛酸,还可以在脱氢抗坏血酸还原酶和谷胱甘肽共同存在下形成还原态谷胱甘肽(图2)。这一系列催化反应属于抗坏血酸的再生过程。研究表明,抗坏血酸的再生过程影响植物抗坏血酸含量和抗逆性。在水稻中超量表达*OsDHAR*,发现水稻抗坏血酸含量和产量显著提高(Kim等2013)。在烟草(*Nicotiana tabacum*)中表达番茄的*SIMDHAR*后,转基因烟草中抗坏血酸含量、抗氧化酶活性、脯氨酸和可溶性糖含量均显著提高,胁迫相关基因表达水平也较高(Qi等2020)。

2.2 抗坏血酸合成途径相关基因

2.2.1 甘露糖磷酸变位酶

甘露糖磷酸变位酶(PMM)可以将D-甘露糖-6-磷酸催化成D-甘露糖-1-磷酸。PMM活性首次在红藻(*Galdieria sulphuraria*)中检测到(Oesterhelt等1996)。到2007年,已在拟南芥、烟草、大豆(*Glycine*

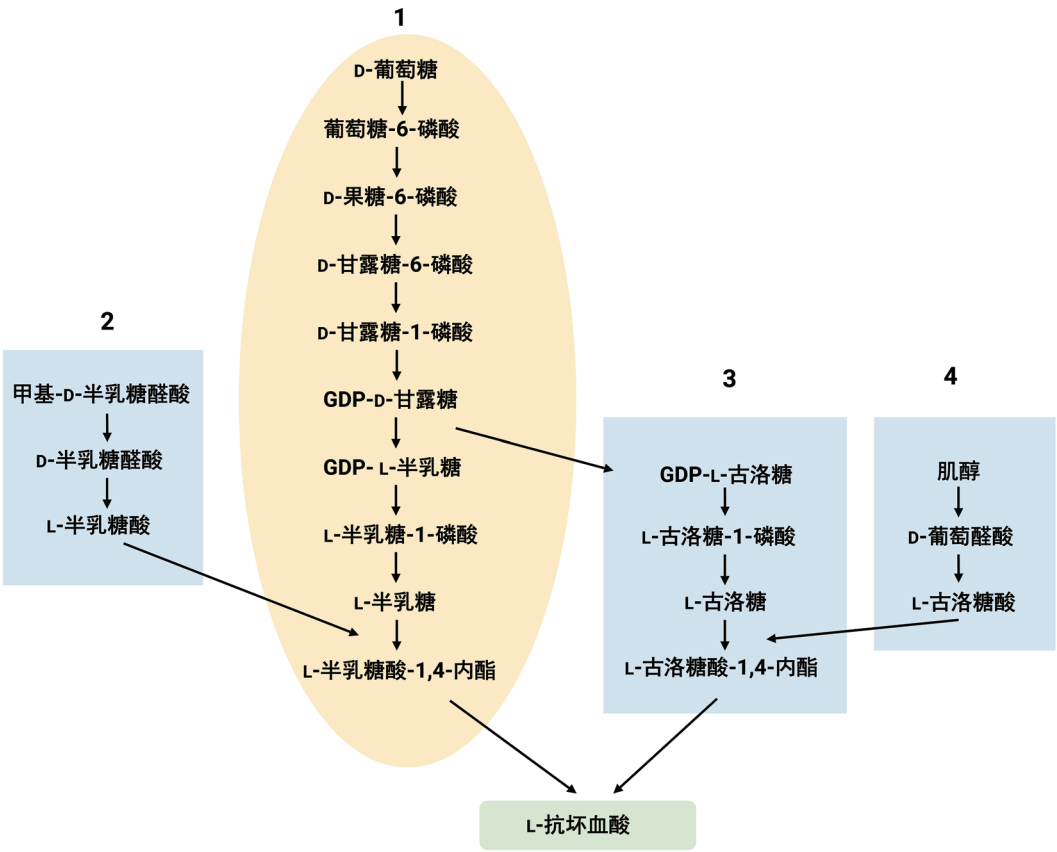


图1 植物中抗坏血酸生物合成途径

Fig. 1 Ascorbic acid biosynthesis pathway in plant

1: D-甘露糖/L-半乳糖途径; 2: 半乳糖醛酸途径; 3: 古洛糖途径; 4: 肌醇途径。根据Ntagkas等(2018)修改。

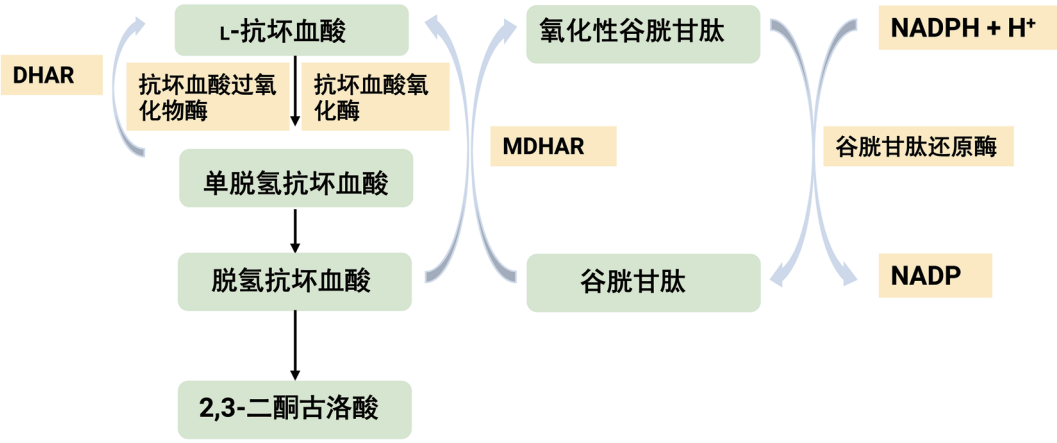


图2 植物抗坏血酸氧化循环过程

Fig. 2 Ascorbic acid oxidation cycle in plant

max)、番茄、水稻和小麦(*Triticum aestivum*)中克隆到PMM基因的cDNA序列,并发现植物中的PMM基因与人类和酵母的序列相似性超过了50%。在烟草中,干涉PMM基因,转基因植株叶片抗坏血酸含量显著降低;相反,通过异位表达方式超量表达PMM,转基因植株抗坏血酸含量增加了将近1倍(Qian等2007)。在烟草中超量表达西印度樱桃(*Malpighia glabra*)的PMM基因后,转基因烟草抗坏血酸含量增加了2倍左右,并且发现在西印度樱桃、番茄、烟草中PMM酶活性和抗坏血酸含量相关(Badejo等2009)。

2.2.2 GDP-D-甘露糖磷酸化酶

GDP-D-甘露糖磷酸化酶(GMP)即VTC1,以甘露糖-1-磷酸为催化底物,生成GDP-D-甘露糖,首次在拟南芥抗坏血酸突变体中克隆,被认为是甘露糖/半乳糖合成途径的第一个限速酶。在水稻中超量表达*OsVTC1-1*、*OsVTC1-3*、*OsVTC1-8*,发现*OsVTC1-1*在叶中表达量最高,主要参与叶片抗坏血酸的合成;*OsVTC1-3*主要在根中表达并参与根中抗坏血酸合成;*OsVTC1-8*在持续光照或黑暗处理下表达水平没有显著差异,过表达也没有恢复*VTC1-1*中的抗坏血酸含量,可能和抗坏血酸合成没有关系(Qin等2016)。在烟草中超量表达金发草(*Pogonatherum paniceum*) GMP基因,可以显著提高转基因烟草中抗坏血酸含量和抵抗盐胁迫、干旱的能力(Ai等2016)。

2.2.3 GDP-D-甘露糖-3',5'-表型异构酶

GDP-D-甘露糖-3',5'-表型异构酶(GME)可以催化两个反应:第一个反应生成GDP-L-半乳糖,这是甘露糖/半乳糖合成途径中核苷酸水平的第一步;第二个反应催化生成GDP-L-古洛糖,形成抗坏血酸古洛糖生物合成途径。大多数植物中只有一个GME基因,而在番茄中存在两个GME基因。在番茄中分别超量表达两个GME基因后,转基因番茄抗坏血酸含量增加(张婵娟等2011);相反,共干涉两个GME基因后,植株抗坏血酸含量下降,茎秆变脆,果实硬度降低(Gilbert等2009; Mounet-Gilbert等2016)。

2.2.4 GDP-L-半乳糖磷酸化酶

GDP-L-半乳糖磷酸化酶(GGP)基因是甘露糖/

半乳糖合成途径中最后被克隆出来的基因,可以将GDP-L-半乳糖转化成L-半乳糖-1-磷酸,这是抗坏血酸合成途径专属步骤的第一步,在抗坏血酸生物合成中起重要作用。在烟草中瞬时表达甘露糖/半乳糖合成途径相关基因,发现不管是单个表达还是几个基因组合表达,只有在存在GGP时抗坏血酸含量显著增加(Fenech等2021)。在GGP缺失突变体中,不仅番茄果实的抗坏血酸含量显著降低,其产量也显著减少(Alegre等2020)。

2.2.5 L-半乳糖-1-磷酸磷酸酶

L-半乳糖-1-磷酸磷酸酶(GPP)从猕猴桃(*Actinidia deliciosa*)中首次纯化出来,可催化L-半乳糖-1-磷酸转化成L-半乳糖(Laing等2004)。随后,Conklin等(2006)在拟南芥中通过图位克隆定位了*VTC4*,与Laing等(2004)克隆的基因相同,并发现*vtc4*和T-DNA插入突变体中抗坏血酸含量均显著降低。在番茄果实发育和成熟过程中,对抗坏血酸合成、氧化、循环途径中24个相关基因的表达分析发现,GPP在果实发育过程中对抗坏血酸的积累具有重要的调控作用(Ioannidi等2009)。进一步研究发现,GPP不仅在猕猴桃抗坏血酸积累中发挥重要作用,还可以被非生物胁迫调节(Li等2013)。

2.2.6 L-半乳糖-1,4-内酯脱氢酶

L-半乳糖-1,4-内酯脱氢酶(GLDH)是抗坏血酸生物合成途径中最后一个催化酶,该酶存在于线粒体内膜上,可以催化L-半乳糖-1,4-内酯转化成L-抗坏血酸。该酶最初从甘薯(*Dioscorea esculenta*)根中纯化出来,在花椰菜(*Brassica oleracea* var. *botrytis*)中被克隆,氨基酸高度保守;大多数植物中只存在一个GLDH基因。在烟草悬浮细胞中反义表达GLDH后,抗坏血酸含量极显著减少(Tabata等2001);而超量表达后,悬浮细胞中抗坏血酸含量显著增加,并且细胞有丝分裂和抗衰老能力均显著提高(Tokunaga等2005)。Imai等(2009)在烟草中异位表达甘薯的GLDH,对超表达烟草和对照材料进行立体叶片饲喂,发现外源供应L-半乳糖-1,4-内酯可以增加叶片抗坏血酸含量,猜测GLDH是抗坏血酸生物合成的限制因素。Schimmeyer等(2016)发现,GLDH不仅是抗坏血酸合成途径的限制酶,而且在线粒体复合体组装中发挥重要作用。

3 影响植物抗坏血酸的调控因子

植物中抗坏血酸含量受到多种因素影响。研究表明,不同植物抗坏血酸含量差异较大,同一植物不同品种和发育阶段抗坏血酸含量差异也极为明显。植物中抗坏血酸合成受到外界环境因子和内在遗传因素共同影响。

3.1 环境因子对抗坏血酸的影响

3.1.1 光照

光对植物中的抗坏血酸水平有调节作用。光可以刺激D-Man/L-Gal生物合成途径,诱导相关基因表达,使植物组织中抗坏血酸含量随光照辐度增加而增加(Ntagkas等2018)。进一步研究表明,抗坏血酸合成途径中相关基因(如GMP、GME、GPP、GPP、GalDH、GLDH)的启动子上存在很多光响应元件,且这些基因由光诱导(Jiang等2018)。水稻中抗坏血酸含量受光照诱导,强光下GPP和GalDH的表达水平升高,抗坏血酸含量增加,而在黑暗下降低(Fukunaga等2010)。黑暗条件下,GMP、GPP、GLDH和VTC2基因的转录水平下调,拟南芥叶片抗坏血酸含量下降91%,而光照时间延长至16 h后拟南芥叶片抗坏血酸含量是对照的1.71倍(Yabuta等2007)。

3.1.2 温度

温度通过影响抗坏血酸合成基因的表达水平来改变植物体内抗坏血酸的积累。在12℃时,番茄抗坏血酸合成途径相关基因的表达水平增强,抗坏血酸循环中的MDHAR和DHAR活性及氧化应激相关酶活性增加;而在高温(31℃)下,尽管抗坏血酸合成基因表达增强,但MDHAR和GR的活性显著降低,限制抗坏血酸再生过程,从而减少抗坏血酸积累(Massot等2013)。进一步研究证明,在低温胁迫条件下,大多数抗坏血酸生物合成和氧化还原反应相关酶的基因(如抗坏血酸生物合成基因GLDH、GME、APX、MDHAR、DHAR),以及与L-抗坏血酸氧化还原状态密切相关的GR基因转录上调(Tsaniklidis等2014)。

3.1.3 酸碱度

Hou等(2015)用不同pH处理番茄叶片后,发现低pH条件下,抗坏血酸含量增加,活性氧减少;随

着pH升高,抗坏血酸合成途径中大部分基因表达均呈现下调趋势,抗坏血酸含量也随之降低。

3.1.4 激素

抗坏血酸是一种重要的抗氧化剂,可以响应生物和非生物胁迫。研究表明,植物体内抗坏血酸可以通过激素信号通路来调节防御网络。茉莉酸甲酯(MeJA)是植物响应胁迫的一种重要信号,通过¹⁴C-甘露糖放射标记结合高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)和转录谱分析,发现MeJA处理可以增强拟南芥和烟草By-2悬浮细胞中参与抗坏血酸从头生物合成和再生基因的转录,引起更高的抗坏血酸从头合成率,增加其还原形式的供应,维持许多二级途径,保持植物细胞的氧化还原状态(Wolucka等2005)。茉莉酸(JA)可以诱导拟南芥抗坏血酸、谷胱甘肽和半胱氨酸的积累,并增加脱氢抗坏血酸还原酶的活性(Sasaki-Sekimoto等2005)。JA处理玉米幼苗可以降低过量碳酸钠对植物生长的毒性作用,还可以抑制盐诱导的脯氨酸和谷胱甘肽含量增加,显著改善抗坏血酸含量和氧化还原状态(Mir等2018)。在拟南芥*abi4 vtc2*双突变体中,JA可以同时恢复*vtc2*突变体生长缓慢的表型和*abi4*突变体糖不敏感表型,表明JA信号通路有助于生长调控,还说明抗坏血酸和糖信号通路在植物生长调控中存在强相互作用(特别是通过ABI4通路),共同证明低浓度抗坏血酸可以诱导脱落酸(ABA)和茉莉酸依赖的信号途径,共同通过ABI4达到调节拟南芥生长的目的(Kerchev等2011)。

3.2 调控因子对抗坏血酸的影响

植物中抗坏血酸的积累除受外界环境影响外,还受到内在遗传因素影响。内在遗传因素包括抗坏血酸生物合成基因和抗坏血酸调控因子。抗坏血酸合成途径已经明确,相关结构基因已经克隆报道。

AMR1是从拟南芥臭氧处理突变体库中筛选出的第一个抗坏血酸调控因子,属于F-box蛋白。*AMR1*突变体是臭氧敏感型材料,其抗坏血酸含量与野生型相比显著降低,反之,T-DNA插入突变体(*amr1*)的抗坏血酸含量显著升高。进一步研究表明,AMR1可以负调控抗坏血酸D-Man/L-Gal合成途径

中的 *GMP*、*GME*、*GGP*、*GPP*、*GalDH*和*GLDH* 基因的表达式, 且*AMR1*表达量随着叶片衰老而增加, 抗坏血酸含量随之降低, 说明*AMR1*在拟南芥中通过调控发育和环境信号的主要通路基因的表达式来调节抗坏血酸水平过程中发挥重要作用 (Zhang等2009)。

*AtERF98*是拟南芥中的第二个抗坏血酸调控因子, 是从拟南芥插入突变体库中筛选出来的。*arerf98*突变体和沉默表达的转基因材料与野生型相比, 抗坏血酸含量显著降低; 反之超量表达后, *VTC1*表达式水平升高, 抗坏血酸含量显著增加。*AtERF98*属于乙烯响应转录因子, 可以通过结合启动子上DRE-2顺式元件调控下游基因表达式。*VTC1*启动子序列分析发现其上存在DRE-2顺式元件, 瞬时表达式和CHIP实验也证明了*AtERF98*可以结合*VTC1*启动子上的DRE-2顺式元件, 正向调控*VTC1*基因表达式, 从而正向调控拟南芥抗坏血酸合成(Zhang等2012)。

CSN5B (光形态形成因子COP9信号体亚基5B) 是通过酵母双杂交技术筛选拟南芥黄化幼苗cDNA文库, 鉴定的与*VTC1*互作的蛋白。在避光处理下, *CSN5B*可以结合*VTC1*的N端, 通过蛋白酶体促进依赖泛素化的*VTC1*降解, 而且*csn5b*在光照和黑暗条件下均显示出较高抗坏血酸水平, 说明*CSN5B*通过影响*VTC1*蛋白来调节抗坏血酸合成(Wang等2013)。

KJC (核苷酸糖焦磷酸化酶类蛋白)是拟南芥中的抗坏血酸调控因子, 通过与*VTC1*相互作用激

发*VTC1*的活性。*kjc1 kjc2*双突变体表现出严重的侏儒症, *kjc1*突变体中*VTC1*活性降低90%, 导致抗坏血酸水平降低60%, 而过表达*KJC1*显著提高了*VTC1*活性(Sawake等2015)。

SIHZ24 (HD-ZIP转录因子家族)是利用*SIGMP3*基因的启动子, 通过酵母单杂交技术, 在番茄均一化文库中筛选获得的抗坏血酸调控因子。烟草瞬时表达式和凝胶电泳迁移率实验证明, *SIHZ24*可以与*SIGMP3*启动子上的顺式元件互作, 过表达*SIHZ24*后转基因番茄中抗坏血酸水平升高, RNA干扰(RNAi)抑制该基因的表达式后抗坏血酸含量减少。结果表明*SIHZ24*可以通过正向调控*SIGMP3*的表达式来正向调控抗坏血酸的积累, 这是番茄中报道的第一个抗坏血酸调控因子(Hu等2016)。

PbrMYB5 (R2-R3型MYB转录因子)是通过酵母单杂交技术, 以*PbrDHAR2*启动子为饵, 从杜梨(*Pyrus betulaefolia*)中分离出来的抗坏血酸调控因子。*PbrMYB5*定位于细胞核, 可以特异结合*PbrDHAR2*启动子上的顺式元件。*PbrMYB5*转基因烟草中*NiDHAR2*表达式量和抗坏血酸积累显著高于野生型材料。病毒诱导的杜梨*PbrMYB5*基因沉默下调*PbrDHAR2*的表达式, 降低抗坏血酸水平, 同时增加了杜梨对低温胁迫的敏感性, 表明*PbrMYB5*是抗坏血酸生物合成的激活子(Xing等2019)。

SINFYA10 (NFYA亚家族成员之一)是利用*SlGME1*启动子片段, 通过酵母单杂交技术, 在番茄均一化文库中筛选的抗坏血酸调控因子。酵母杂交实验和瞬时表达式实验均证明*SINFYA10*结合*SIGME1*

表1 高等植物中抗坏血酸调控因子汇总
Tabel 1 Summary of ascorbic acid regulators in higher plants

名称	分类	调控类型(正/负)	来源物种	参考文献
<i>AMR1</i>	蛋白	负	拟南芥	Zhang等2009
<i>AtERF98</i>	转录因子	正	拟南芥	Zhang等2012
<i>CSN5b</i>	蛋白	负	拟南芥	Wang等2013
<i>KJCs</i>	蛋白	正	拟南芥	Sawake等2013
<i>SIHZ24</i>	转录因子	正	番茄	Hu等2016
<i>PbMYB5</i>	转录因子	正	刺梨	Xing等2019
<i>SINFYA10</i>	转录因子	负	番茄	Chen等2020
<i>ABI4</i>	转录因子	负	拟南芥	Kakan等2021
<i>AceMYBS1/AceGBF3</i>	转录因子	正	猕猴桃	Liu等2022

启动子上的CCAAT-box顺式元件。*SINFYA10*超量表达转基因番茄时, *SIGME1*的表达水平和抗坏血酸含量显著降低, 活性氧清除能力减弱。说明*SINFYA10*负调控*SIGME1*的表达, 进一步负调控抗坏血酸的含量, *SINFYA10*是抗坏血酸负调控因子(Chen等2020)。

ABI4 (ABA INSENSITIVE 转录因子家族) 负向调控拟南芥耐盐性, 并可以直接结合到抗坏血酸生物合成途径关键基因*VTC2*启动子上, 抑制*VTC2*转录和抗坏血酸的生物合成。研究发现, 外源抗坏血酸可以缓解超量表达*ABI4*转基因植物的盐胁迫敏感性, *ABI4*在盐胁迫早期被诱导, 导致*VTC2*表达量下降。在相同的盐胁迫条件下, *VTC2*蛋白的表达丰度下降, 而在*ABI4*功能缺失突变体中不存在这种现象, 说明*ABI4*对*VTC2*的转录抑制导致*VTC2*功能减弱(Kakan等2021)。

*AceMYBS1*是利用HPLC测定48个猕猴桃属植物中抗坏血酸含量时筛选出的抗坏血酸调控因子。*AceMYBS1*可以直接结合*AcGGP3*的启动子并激活其表达, 从而促进抗坏血酸的生物合成。利用*AceMYBS1*进行酵母双杂交文库钓饵, 筛选出与*AceMYBS1*直接互作的*AceGBF3*, 研究表明, *AceGBF3*与*AceMYBS1*相互作用可以促进*AcGGP3*的表达, 增加抗坏血酸的生物合成(Liu等2022)。

4 展望

抗坏血酸不仅是人类生存必不可少的营养物质, 对植物生长发育过程也起着关键作用。而且, 抗坏血酸作为品质性状的指标之一, 在现代育种过程中倍受重视。植物抗坏血酸生物合成和代谢途径已经较为明确, 相关结构基因已经被克隆报道。近年来, 对抗坏血酸的调控研究成为热点, 但还有多个方向值得深入研究: (1)浆果类植物中抗坏血酸调控因子或转录因子的研究较少, 且主要集中在对*GMP* (*VTC1*)基因的调控上, 关于其他基因的调控新机理还有待进一步研究; (2)通过浆果类植物(例如番茄)抗坏血酸突变体的研究能够更加清晰地了解抗坏血酸对植物果实生长发育的影响, 浆果类植物抗坏血酸突变体的制备和研究也可以为未来生物育种提供材料, 并可制作功能性产

品[如日本富 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)的番茄]; (3)一定条件的逆境环境可以提升植物的品质指标, 如何利用适度的逆境环境提高植物抗坏血酸的积累有待进一步阐明; (4)在胁迫响应过程中, 抗坏血酸与植物体内其他抗氧化代谢物的关系还有待探明。

参考文献(References)

- Agius F, González-Lamothe R, Caballero JL, et al (2003). Engineering increased vitamin C levels in plants by over-expression of a D-galacturonic acid reductase. *Nat Biotechnol*, 21 (2): 177–181
- Ai T, Liao X, Li R, et al (2016). GDP-D-mannose pyrophosphorylase from *Pogonatherum paniceum* enhances salinity and drought tolerance of transgenic tobacco. *Z Naturforsch C J Biosci*, 71 (7–8): 243–252
- Alegre ML, Steelheart C, Baldet P, et al (2020). Deficiency of GDP-L-galactose phosphorylase, an enzyme required for ascorbic acid synthesis, reduces tomato fruit yield. *Planta*, 251 (2): 54
- Badejo AA, Eltelib HA, Fukunaga K, et al (2009). Increase in ascorbate content of transgenic tobacco plants over-expressing the acerola (*Malpighia glabra*) phosphomannomutase gene. *Plant Cell Physiol*, 50 (2): 423–428
- Chatterjee IB (1973). Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid. *Science*, 182 (4118): 1271–1272
- Chen KM, Gong HJ, Wang SM, et al (2004). Biosynthesis, transport and function of ascorbate in plants. *Acta Bot Bor-Occid Sin*, 24 (2): 329–336 (in Chinese with English abstract) [陈坤明, 宫海军, 王锁民(2004). 植物抗坏血酸的生物合成、转运及其生物学功能. 西北植物学报. 24 (2): 329–336]
- Chen W, Hu T, Ye J, et al (2020). A CCAAT-binding factor, *SINFYA10*, negatively regulates ascorbate accumulation by modulating the D-mannose/L-galactose pathway in tomato. *Hortic Res*, 7 (1): 200
- Conklin PL, Gatzek S, Wheeler GL, et al (2006). *Arabidopsis thaliana VTC4* encodes L-galactose-1-P phosphatase, a plant ascorbic acid biosynthetic enzyme. *J Biol Chem*, 281 (23): 15662–15670
- Davey MW, Persiau G, Bauw G, et al (1999). Direct measurement of ascorbic acid biosynthesis in *Arabidopsis* cell suspension culture using capillary electrophoresis. *J Chromatogr A*, 853 (1–2): 381–389
- Fenech M, Amorim-Silva V, del Valle AE, et al (2021). The role of GDP-L-galactose phosphorylase in the control of ascorbate biosynthesis. *Plant Physiol*, 185 (4): 1574–1594
- Fukunaga K, Fujikawa Y, Esaka M, et al (2010). Light reg-

- ulation of ascorbic acid biosynthesis in rice *via* light responsive *cis*-elements in genes encoding ascorbic acid biosynthetic enzymes. *Biosci Biotechnol Biochem*, 74 (4): 888–891
- Gilbert L, Alhaghdow M, Nunes-Nesi A, et al (2009). GDP-D-mannose 3,5-epimerase (GME) plays a key role at the intersection of ascorbate and non-cellulosic cell-wall biosynthesis in tomato. *Plant J*, 60 (3): 499–508
- Hou X, Feng L, Liu G, et al (2015). The influence of growth media pH on ascorbic acid accumulation and biosynthetic gene expression in tomato. *Sci Hort*, 197: 637–643
- Hu T, Ye J, Tao P, et al (2016). The tomato HD-Zip I transcription factor SIHZ24 modulates ascorbate accumulation through positive regulation of the D-mannose/L-galactose pathway. *Plant J*, 85 (1): 16–29
- Imai T, Niwa M, Ban Y, et al (2009). Importance of the L-galactonolactone pool for enhancing the ascorbate content revealed by *L-galactonolactone dehydrogenase*-over-expressing tobacco plants. *Plant Cell Tiss Org*, 96: 105–112
- Ioannidi E, Kalamaki MS, Engineer C, et al (2009). Expression profiling of ascorbic acid-related genes during tomato fruit development and ripening and in response to stress conditions. *J Exp Bot*, 60 (2): 663–678
- Jiang M, Liu Y, Ren L, et al (2018). Light regulates ascorbic acid accumulation and ascorbic acid-related genes expression in the peel of eggplant. *S Afr J Bot*, 114: 20–28
- Kakan X, Yu Y, Li S, et al (2021). Ascorbic acid modulation by ABI4 transcriptional repression of *VTC2* in the salt tolerance of *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 21 (1): 112
- Kerchev PI, Pellny TK, Vivancos PD, et al (2011). The transcription factor ABI4 is required for the ascorbic acid-dependent regulation of growth and regulation of jasmonate-dependent defense signaling pathways in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23 (9): 3319–3334
- Kim YS, Kim IS, Bae MJ, et al (2013). Homologous expression of cytosolic dehydroascorbate reductase increases grain yield and biomass under paddy field conditions in transgenic rice (*Oryza sativa* L. *japonica*). *Planta*, 237: 1613–1625
- Klener P, Alexander MS, Cullen JJ, et al (2020). The benefits of ascorbate to protect healthy cells in the prevention and treatment of oncological diseases. *J Appl Biomed*, doi: 10.32725/jab.2020.003
- Laing WA, Bulley S, Wright M, et al (2004). A highly specific L-galactose-1-phosphate phosphatase on the path to ascorbate biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 (48): 16976–16981
- Li J, Li M, Liang D, et al (2013). Expression patterns and promoter characteristics of the gene encoding *Actinidia deliciosa* L-galactose-1-phosphate phosphatase involved in the response to light and abiotic stresses. *Mol Biol Rep*, 40 (2): 1473–1485
- Liu X, Wu R, Bulley SM, et al (2022). Kiwifruit MYBS1-like and GBF3 transcription factors influence L-ascorbic acid biosynthesis by activating transcription of *GDP-L-galactose phosphorylase 3*. *New Phytol*, 234 (5): 1782–1800
- Lorence A, Chevone BI, Mendes P, et al (2004). *myo*-Inositol oxygenase offers a possible entry point into plant ascorbate biosynthesis. *Plant Physiol*, 134 (3): 1200–1205
- Massot C, Bancel D, Lauri FL, et al (2013). High temperature inhibits ascorbate recycling and light stimulation of the ascorbate pool in tomato despite increased expression of biosynthesis genes. *PLOS One*, 8 (12): e84474
- Mir MA, John R, Alyemeni MN, et al (2018). Jasmonic acid ameliorates alkaline stress by improving growth performance, ascorbate glutathione cycle and glyoxylase system in maize seedlings. *Sci Rep*, 8 (1): 2831
- Mounet-Gilbert L, Dumont M, Ferrand C, et al (2016). Two tomato GDP-D-mannose epimerase isoforms involved in ascorbate biosynthesis play specific roles in cell wall biosynthesis and development. *J Exp Bot*, 67 (15): 4767–4777
- Ntagkas N, Woltering EJ, Marcelis LFM (2018). Light regulates ascorbate in plants: An integrated view on physiology and biochemistry. *Environ Exp Bot*, 147: 271–280
- Oesterhelt C, Schnarrenberger C, Gross W (1996). Phosphomannomutase and phosphoglucomutase in the red alga *Galdieria sulphuraria*. *Plant Sci*, 121: 19–27
- Paciolla C, Fortunato S, Dipierro N, et al (2019). Vitamin C in plants: from functions to biofortification. *Antioxidants*, 8 (11): 519
- Qi Q, Dong Y, Liang Y, et al (2020). Overexpression of *SIM-DHAR* in transgenic tobacco increased salt stress tolerance involving S-nitrosylation regulation. *Plant Sci*, 299: 110609
- Qian W, Yu C, Qin H, et al (2007). Molecular and functional analysis of phosphomannomutase (PMM) from higher plants and genetic evidence for the involvement of PMM in ascorbic acid biosynthesis in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana*. *Plant J*, 49 (3): 399–413
- Qin H, Deng Z, Zhang C, et al (2016). Rice GDP-mannose pyrophosphorylase OsVTC1-1 and OsVTC1-3 play different roles in ascorbic acid synthesis. *Plant Mol Biol*, 90 (3): 317–327
- Sasaki-Sekimoto Y, Taki N, Obayashi T, et al (2005). Coordinated activation of metabolic pathways for antioxidants and defence compounds by jasmonates and their roles in stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 44 (4): 653–668
- Sawake S, Tajima N, Mortimer JC, et al (2015). KONJAC1

- and 2 are key factors for GDP-mannose generation and affect L-ascorbic acid and glucomannan biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 27 (12): 3397–3409
- Schimmeyer J, Bock R, Meyer EH (2016). L-Galactono-1,4-lactone dehydrogenase is an assembly factor of the membrane arm of mitochondrial complex I in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 90 (1–2): 117–126
- Song W, Wang F, Chen L, et al (2019). *GhVTC1*, the key gene for ascorbate biosynthesis in *Gossypium hirsutum*, involves in cell elongation under control of ethylene. *Cells*, 8 (9): 1039
- Steelheart C, Alegre ML, Baldet P, et al (2020). The effect of low ascorbic acid content on tomato fruit ripening. *Planta*, 252 (3): 36
- Stevens R, Buret M, Duffé P, et al (2007). Candidate genes and quantitative trait loci affecting fruit ascorbic acid content in three tomato populations. *Plant Physiol*, 143 (4): 1943–1953
- Tabata K, Ôba K, Suzuki K, et al (2001). Generation and properties of ascorbic acid-deficient transgenic tobacco cells expressing antisense RNA for L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase. *Plant J*, 27 (2): 139–148
- Tokunaga T, Miyahara K, Tabata K, et al (2005). Generation and properties of ascorbic acid-overproducing transgenic tobacco cells expressing sense RNA for L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase. *Planta*, 220 (6): 854–863
- Tsaniklidis G, Delis C, Nikoloudakis N, et al (2014). Low temperature storage affects the ascorbic acid metabolism of cherry tomato fruits. *Plant Physiol Biochem*, 84: 149–157
- Wang J, Yu Y, Zhang Z, et al (2013). *Arabidopsis* CSN5B interacts with VTC1 and modulates ascorbic acid synthesis. *Plant Cell*, 25 (2): 625–636
- Wheeler GL, Jones MA, Smirnoff N (1998). The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, 393 (6683): 365–369
- Wolucka BA, Goossens A, Inzé D (2005). Methyl jasmonate stimulates the *de novo* biosynthesis of vitamin C in plant cell suspensions. *J Exp Bot*, 56 (419): 2527–2538
- Wolucka BA, Van Montagu M (2003). GDP-mannose 3',5'-epimerase forms GDP-L-gulose, a putative intermediate for the *de novo* biosynthesis of vitamin C in plants. *J Biol Chem*, 278 (48): 47483–47490
- Xing C, Liu Y, Zhao L, et al (2019). A novel MYB transcription factor regulates ascorbic acid synthesis and affects cold tolerance. *Plant Cell Environ*, 42 (3): 832–845
- Yabuta Y, Mieda T, Rapolu M, et al (2007). Light regulation of ascorbate biosynthesis is dependent on the photosynthetic electron transport chain but independent of sugars in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 58 (10): 2661–2671
- Yu L, Zhang Q, Lu L, et al (2020). The role of ascorbic acid in rice leaf senescence and photo-carbon imbalance. *Funct Plant Biol*, 47 (3): 263–278
- Zhang CJ (2011). Functional characterization and regulation of key genes involved in tomato ascorbic acid biosynthesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [张婵娟(2011). 番茄抗坏血酸生物合成途径关键基因的功能分析与调控研究(学位论文). 武汉: 华中农业大学]
- Zhang W, Lorence A, Gruszeński H, et al (2009). *AMR1*, an *Arabidopsis* gene that coordinately and negatively regulates the mannose/L-galactose ascorbic acid biosynthetic pathway. *Plant Physiol*, 150 (2): 942–950
- Zhang Z, Wang J, Zhang R, et al (2012). The ethylene response factor AtERF98 enhances tolerance to salt through the transcriptional activation of ascorbic acid synthesis in *Arabidopsis*. *Plant J*, 71 (2): 273–287
- Zheng XT, Yu ZC, Chen XF, et al (2020). Endogenous ascorbic acid delays ethylene-induced leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthetica*, 58: 720–731