

# 高等植物脱落酸的代谢及调节机制

全先庆<sup>1,2,3</sup>, 张渝浩, 杨家森, 毕玉平<sup>\*</sup> (1. 山东省农业科学院高新技术研究中心, 作物与畜禽品种改良生物技术重点实验室, 山东济南250100; 2. 山东师范大学生命科学学院, 山东济南250014; 3. 临沂师范学院生命科学学院, 山东临沂276000)

**摘要** 脱落酸(ABA)在种子的发育、休眠、萌发以及植物的营养生长、环境胁迫响应等过程中具有重要作用,植物体具有控制ABA的合成、降解、信号感知及其信号转导的调节机制。目前对高等植物ABA的合成途径及其调节机制的研究已比较深入,合成途径中的所有关键酶基因都已鉴定出,但对ABA分解代谢的研究则相对滞后。概述了ABA的生物合成、分解代谢途径及其调节机制。

**关键词** 脱落酸(ABA);生物合成;分解;调节

中图分类号 Q945.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)13-2966-03

## Metabolism and its Regulation Mechanism of Abscisic Acid in Higher Plants

QUAN Xian-qing et al (High Technology Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory for Genetic Improvement of Crop and Poultry of Shandong Province, Jinan, Shandong 250100)

**Abstract** ABA plays important roles in many cellular processes including seed development, dormancy, germination, vegetative growth and environmental stress responses. These diverse functions of ABA involve complex regulatory mechanisms controlling its production, degradation, signal perception, and transduction. The pathway for ABA biosynthesis in higher plants is now understood in great detail through genetic and biochemical studies, and all the major genes for the enzymes in the biosynthesis pathway have been identified. However, much remains to be learned about ABA catabolism pathway and its regulation mechanism. In this review, the pathways of ABA biosynthesis, catabolism and their regulation mechanisms were presented.

**Key words** Abscisic acid (ABA); Biosynthesis; Catabolism; Regulation

脱落酸(Abscisic acid, ABA)在高等植物的胚胎发生、种子发育、贮藏蛋白合成、叶片衰老、种子萌发、呼吸调节等过程中具有重要作用,在干旱、寒冷、酷热、盐渍、水涝、缺氧、病原体侵染等条件下,ABA含量会迅速增加,导致气孔关闭减少水分蒸腾,激活编码可溶性渗透保护物质等基因降低胁迫伤害,减少胁迫诱导的乙烯、活性氧对植物生长的影响,其中每一个反应的进行都由一个复杂的信号转导网络控制<sup>[1]</sup>。目前对ABA与植物耐逆关系的研究已有了很大进展,但ABA在胁迫条件下的确切功能仍不清楚。笔者概述了ABA的生物合成、分解代谢途径及其调节机制。

### 1 高等植物ABA的生物合成

ABA生物合成包括C<sub>15</sub>直接途径和C<sub>40</sub>间接途径,前者由C<sub>15</sub>法呢焦磷酸(FPP)经环化和氧化作用直接形成ABA;后者由C<sub>40</sub>类胡萝卜素氧化裂解形成ABA。ABA缺失突变体和同位素示踪实验等分子生物学分析表明,高等植物ABA是通过间接途径合成的。在该途径中,玉米黄质环氧化酶(ZEP)、9-顺式环氧类胡萝卜素二加氧酶(NCED)和醛氧化酶(AO)起着重要作用。目前已分离、鉴定了一些与ABA生物合成有关的酶及其基因。

NCED催化裂解产生黄质醛是间接途径合成ABA的关键步骤,黄质醛先被氧化成ABA酮,再转变成ABA醛,然后形成ABA。烟草的NpZEP是最先发现的与ABA生物合成有关的酶,编码该蛋白的基因在叶中不受渗透胁迫诱导,但在根中被诱导,根和种子中的类胡萝卜素含量很少,NpZEP基因表达量的增加与ABA含量增加呈正相关;过量表达NpZEP不增加ABA含量,但促进种子休眠<sup>[2]</sup>,表明ZEP调控的环氧类胡萝卜素的含量只在根的ABA合成中起调控作用。NCED催化C<sub>40</sub>产生C<sub>15</sub>中间体黄质醛(xanthoxin)的反

应发生在质体,NCED基因最初从玉米ABA缺失突变体vp14中克隆到,之后相继在菜豆、豇豆、鳄梨和拟南芥等植物中克隆到该基因,已知的NCED都包含1个小基因家族。过量表达LeNCED3、AtNCED3和PvNCED1的转基因植物ABA含量都增加,耐旱能力提高,ABA代谢产物红花菜豆酸的含量也明显增加<sup>[3]</sup>。甜橙在果实成熟过程中累积大量ABA,自然和乙烯诱导的成熟果实中及受水胁迫的叶中,GsNCED1基因表达增强,表明GsNCED1在果实和叶的ABA合成中发挥主要作用,GsNCED2只在有色体丰富的组织中发挥辅助性作用,研究认为NCED在甜橙外皮中最主要的底物可能是9-顺式紫黄质,9-顺式新黄质可能是光合组织中ABA合成的前体<sup>[4]</sup>。从干旱的花生叶中克隆到的AhNCED1可被干旱上升调节,复水则抑制其表达,AhNCED1主要在叶和茎中表达<sup>[5]</sup>。

黄质醛从叶绿体转至细胞质,经2步催化反应通过ABA醛转变成ABA,该过程有3种可能的途径<sup>[6]</sup>。途径1中,AtABA2编码的乙醇脱氢酶/还原酶(SDR)催化第1步反应生成ABA醛(abscisic aldehyde, ABAld)<sup>[7,8]</sup>,ABAld被醛氧化酶氧化成ABA,该途径在ABA生物合成中起主要作用。拟南芥突变体aba2<sup>[9]</sup>、sre和san<sup>[8]</sup>等不能催化黄质醛生成ABAld,但可以将ABAld转换成ABA,说明突变体缺失了短链脱氢/还原酶,研究发现这些突变体对应的基因都是与短链脱氢/还原酶相关的基因。ABA醛氧化酶催化合成反应的最后一步,醛氧化酶脱辅基蛋白<sup>[10]</sup>或钼辅因子合成酶的突变都会影响ABA的生物合成。番茄突变体sitien8缺失醛氧化酶,不能将ABAld氧化成ABA;拟南芥aba3<sup>[9]</sup>、烟草aba1及番茄flacca突变体也是关于醛氧化酶损伤的突变体,与拟南芥aba2具有相同的表型,AtABA3编码钼因子硫化酶<sup>[11]</sup>,说明醛氧化酶是依赖于钼的氧化酶。途径2是黄质醛可能通过黄质酸转变成ABA,但与该途径有关的基因尚未克隆到。番茄flacca突变体虽缺少醛氧化酶活性,但能检测到极少量<sup>14</sup>C标记的黄质醛转变成ABA,说明形成ABA可能有另外的途径;拟南芥中醛氧化酶的一些同工酶可以氧化黄质醛,

基金项目 山东省自然科学基金资助项目(Z2002D06)。

作者简介 全先庆(1968-),男,山东临沂人,在读博士,副教授,从事植物遗传发育研究。\* 通讯作者,研究员,博士生导师, E-mail: yuqing-bi@hotmail.com。

收稿日期 2006-04-21

它们可能是将黄质醛氧化成黄质酸<sup>[12]</sup>。途径中,脱落醛被还原成脱落醇,脱落醇再被氧化成ABA。关于脱落醛被还原的反应是在番茄flacca突变体中发现的,外源施加的脱落醛可在突变体中转化成脱落醇,说明可能存在经脱落醇向ABA转化的途径。

## 2 ABA生物合成的调节

### 2.1 ABA生物合成的发育调节

ABA在胚中的合成受发育的严密调节。拟南芥种子发育过程中有2次ABA累积高峰,第1次在传粉后10d,第2次高峰ABA累积量约为第1次的1/3;种子成熟后期ABA含量下降很快,干种子中ABA很少,ABA合成基因的所有转录物都能在胚和发育的种子中检测到<sup>[13]</sup>。在种子发育第1次ABA累积高峰出现之前,ZEP基因即在胚中表达,推测发育种子中的可溶性糖、渗透胁迫及ABA自身可能是激发ABA合成的信号;由于ZEP、SDR1、AACB和MCSU基因都能被糖诱导至不同的水平,因而糖的水平可能调节胚ABA的合成<sup>[7]</sup>。在菸草(*Nicotiana glauca*)种子发育的1/3~1/2时期,NZEP表达达到最大值,与ABA的增加相一致;过量表达NZEP的植物种子ABA较多,休眠性提高,表明NZEP可能调节萌发种子中ABA的合成<sup>[2]</sup>。番茄NCED可能也调节种子的ABA水平,因为LeNCED1过量表达延长了种子的休眠<sup>[14]</sup>。

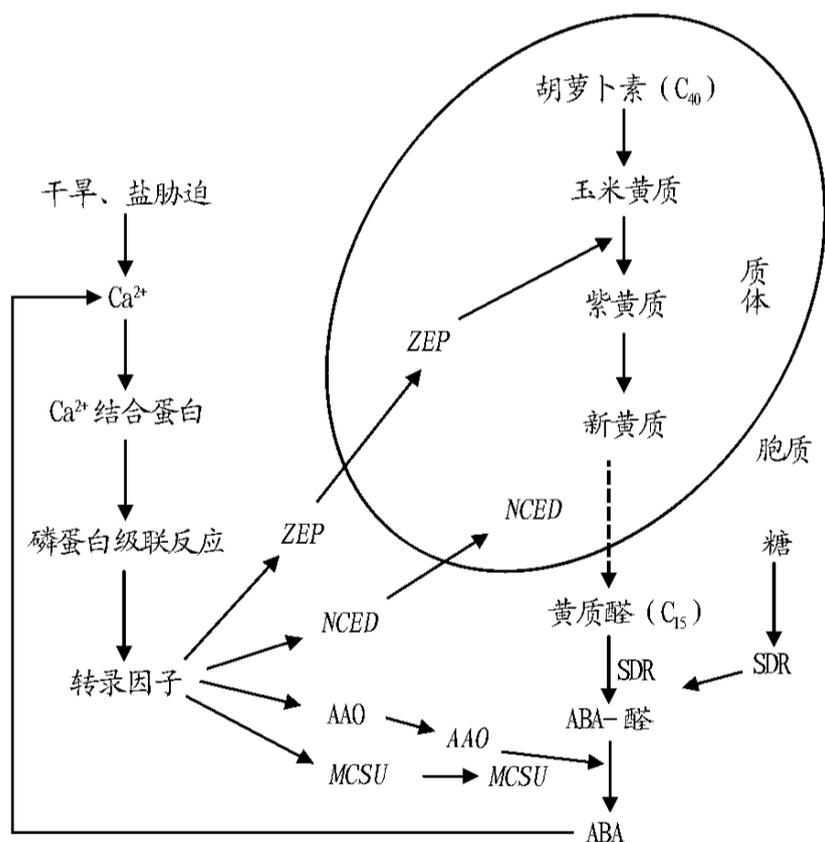


图1 ABA合成调节<sup>[15]</sup>

### 2.2 ABA合成的非生物胁迫调节

环境信号影响ABA的合成。胁迫条件下,ABA合成增加,降解减少,最终导致ABA含量增加。对ABA合成影响最大的环境信号是干旱和盐胁迫,两者诱导ABA合成主要通过调节ABA合成基因的转录,因为转录抑制剂会影响胁迫诱导的ABA合成。ZEP是克隆到的ABA合成途径中的第1个基因,在叶中的表达量较高<sup>[16]</sup>。烟草和番茄的ZEP基因在叶子中的转录水平不被干旱调节,可被光周期调节,根中ZEP基因转录物在干旱胁迫下可增加几倍<sup>[17]</sup>。拟南芥的ZEP基因在地上部分和根中的表达可被干旱、盐和PEG等诱导<sup>[16]</sup>。不同实验中观察到的ZEP基因表达的差异可能部分与基础转录水平有关,基础转录水平较高可能会掩盖基因表达的胁迫诱导性。多种植物NCED基因的表达受干旱诱导,干旱处理15~30min的番茄

叶中NCED转录物大量增加<sup>[17]</sup>,表明NCED基因激活非常快。除ASDR1的表达不被胁迫诱导外<sup>[7]</sup>,其他所有的ABA合成基因都被干旱和盐胁迫诱导表达<sup>[16]</sup>。

### 2.3 ABA合成的自我调节

植物体内的ABA可以通过激发ABA代谢酶的活性反向调节ABA的累积<sup>[18]</sup>。外源ABA可以激活细胞色素P450酶和ABA 8-羟化酶的活性;过量表达NCED的转基因烟草中,ABA的产生与代谢产物红花菜豆酸的过量累积有关<sup>[3]</sup>,表明ABA在非胁迫条件下通过分解调控自身累积,但不清楚ABA能否促进或抑制自身的合成。NCED基因是否被ABA调节与ABA能否调节ABA合成高度相关。番茄NCED基因<sup>[17]</sup>和豇豆的NCED基因<sup>[19]</sup>都不被外源ABA诱导,说明ABA可以促进自身降解,但不能促进其合成。但拟南芥的ZEP、AACB和MCSU都被ABA诱导表达,胁迫条件下,ABA缺失突变体los5、aba1、aba2或aba3所有可被诱导的ABA合成基因的转录物水平都明显低于野生型,因而推测拟南芥ABA缺失突变体aba不可能只是合成酶受损,也可能与其他ABA合成基因表达明显下降有关。ANCED3基因能被ABA诱导,ABA缺失突变体los5和los6中的ANCED3在干旱和盐胁迫下的转录物水平明显低于野生型,表明ANCED3被渗透胁迫激活需要ABA<sup>[16]</sup>。这些都说明ABA对ABA合成有强烈的正反馈作用。

在与ABA合成有关的基因中,催化新黄质的NCED基因被认为是一个限速因素,但实验表明ANZEP的过量表达也能增加拟南芥胁迫诱导基因的表达<sup>[16]</sup>;棉花NZEP过量表达可以增强休眠,延迟种子萌发<sup>[2]</sup>,以上结果说明ZEP可能也限制ABA合成。ABA合成的调节在控制ABA水平和精细调节植物胁迫响应等方面具有重要意义。胁迫诱导的ABA合成信号转导途径可能还与氧化还原信号、Ca<sup>2+</sup>信号转导、蛋白磷酸化和脱磷酸化等有关。磷脂酸和磷脂酶D在植物应答ABA和ROS的信号转导网络中也具有多种作用<sup>[20]</sup>。

## 3 ABA分解代谢

ABA分解代谢途径主要分为8-甲基羟基化代谢途径、9-甲基羟基化代谢途径和ABA酯化降解途径。其中通过8-羟化酶分解ABA产生红花菜豆酸(Phaseic acid, PA)是主要的代谢途径,ABA在细胞色素P450型单氧化酶催化下可生成8-羟基ABA(8-OH ABA),8-OH ABA在环化酶催化下生成红花菜豆酸,红花菜豆酸又能被还原成二氢红花菜豆酸(Dehydrophaseic acid, DPA)<sup>[21]</sup>。另一条代谢途径是ABA的羧基与葡萄糖发生酯化反应生成脱落酸葡萄糖酯(ABA-Glucose ester, ABA-GE)。在拟南芥中过量表达PVNCED1提高了ABA降解产物红花菜豆酸的积累<sup>[3]</sup>。

9-甲基羟基化代谢途径<sup>[22]</sup>发现较晚,中间产物是9-羟基ABA(9-OH ABA),最后生成新红花菜豆酸(Neophaseic acid, neoPA)。检测油菜和芜菁种子和果皮提取物中ABA及其代谢产物时,发现了9-OH ABA及其环化形式,将分离到的9-OH ABA环化形式称为neoPA。检测开花24~25d及开花46d后果实中ABA及其初级产物发现,在开花24~25d的种子中,neoPA是3种氧化性分解代谢物中最丰富的,ABA、PA、neoPA和7-OH ABA的总量是开花后46d的20多倍;开花24~25d的种子中ABA、PA和neoPA的总量是果皮中的50

多倍;开花24~25 d 的果皮中PA 和 neoPA 的含量高于开花后46 d 的。为验证ABA 9-羟基化是否在植物中普遍存在,还研究了很多植物中neoPA 的存在情况,发现甜橙、番茄、拟南芥、鹰嘴豆(*Gcer aridinum*) 以及干旱诱导的大麦和油菜幼苗中都有neoPA。

8-OH ABA 和7-OH ABA 在很多实验中表现出较高的激素活性。大麦种子7-OH ABA 抑制GA<sub>3</sub> 激活的-淀粉酶的活性;源于小孢子的油菜胚8-OH ABA 在诱导脂类修饰基因和贮藏蛋白基因表达上与ABA 一样有效<sup>[24]</sup>,表明特定的ABA 分解代谢产物可以介导ABA 的激素效应。检测9-OH ABA 诱导基因表达的能力发现,10 μmol/L 9-OH ABA 在诱导油菜胚3-酮脂酰 CoA 合成酶 FAE 基因表达上与ABA 一样,neoPA 的效果较弱,neoPA 的活性小于ABA 和9-OH ABA 类似物。研究还发现,油菜幼嫩种子中ABA 和neoPA 的水平较高,较老的种子中ABA 和neoPA 水平较低<sup>[23]</sup>。

ABA 分解还有其他途径,如ABA 直接被还原成ABA 二醇、ABA 7 位甲基发生羟基化反应等,但对这些途径的研究很少,其中ABA 的7-甲基羟基化代谢产物7-OH ABA 不累积,可以进一步形成未知产物<sup>[24]</sup>。

不同植物ABA 的代谢途径可能不同,同种植物的不同发育阶段也可能不同。ABA GE 是落叶松体细胞胚、苍耳、向日葵木质部汁液、蓖麻根和叶以及玉米根的主要代谢物,而玉米细胞悬浮培养物和白云杉中ABA 大部分转变成PA。有些植物还有(+)-7-OH ABA、反式ABA 和顺式、反式1,4-二醇ABA 等代谢物的少量积累。

#### 4 展望

最近研究发现,ABA 可以诱导胡萝卜体胚发生<sup>[25]</sup>, Barrero 等发现拟南芥 aba1 缺失突变体在水分状况良好的情况下生长矮小,表明促进生长也是内源ABA 的功能之一<sup>[26]</sup>。近年来,对ABA 信号转导机制的研究进展很快,但对于控制ABA 累积的外部信号感知、上游信号转导、ROS 产生以及糖感知等的了解还相对较少。胁迫条件下植物感知ABA 的机理、细胞内外ABA 作用位点的差异、参与ABA 引起的信号转导中下游反应的蛋白激酶/磷酸酶及其胞内靶蛋白、ABA 对蛋白质磷酸化/去磷酸化的调节以及蛋白质磷酸化/去磷酸化后对ABA 的识别等问题都还有待于深入研究。

#### 参考文献

- VERSLUESL P E, ZHU J K. ABA signaling from genes to biochemistry[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2005, 33(2): 375-379.
- FREY A, AUDRAN C, MARIN E, et al. Engineering seed dormancy by the modification of zeaxanthin epoxidase gene expression[J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 39: 1267-1274.
- QIN X, ZEEVAART J A D. Overexpression of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene in *Nicotiana glauca* increases abscisic acid and phenolic acid levels and enhances drought tolerance[J]. *Plant Physiol*, 2002, 128: 544-551.
- RODRIGO MJ, ALQUEZAR B, ZACARIAS L. Cloning and characterization of two 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase genes, differentially regulated during fruit maturation and under stress conditions, from orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck)[J]. *J Exp Bot*, 2006, 57(3): 633-643.
- WAN X, LI L. Molecular cloning and characterization of a dehydration-inducible cDNA encoding a putative 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase in *Arachis hypogaea* L[J]. *DNA Seq*, 2005, 16(3): 217-223.
- SEO M, KOSHIBA T. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants[J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 41-48.
- CHENG WH, ENDO A, ZHOU L, et al. A unique short-chain dehydrogenase/reductase in *Arabidopsis* glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions[J]. *Plant Cell*, 2002, 14: 2723-2743.
- GONZALEZ GUZMAN M, APOSTOLOVA N, BELLES J M, et al. The short-chain alcohol dehydrogenase ABA2 catalyzes the conversion of xanthoxin to abscisic aldehyde[J]. *Plant Cell*, 2002, 14: 1833-1846.
- SCHWARTZ S H, LEON KLOSTERZEL K M, KOORNNEEF M, et al. Biochemical characterization of the aba2 and aba3 mutants in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiol*, 1997, 114: 161-166.
- SEO M, KIM H, AKABA S, et al. Abscisic acid aldehyde oxidase of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant J*, 2002, 23: 481-488.
- BITNER F, OREB M, MENDEL R R. ABA3 is a molybdenum cofactor sulfurylase required for activation of aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 40381-40384.
- MILBORROW B W, BURDEN R S, TALOR H F. The conversion of 2-dis-<sup>14</sup>C xanthoxin acid into [<sup>14</sup>C] ABA[J]. *Phytochem*, 1997, 45: 257-260.
- HINKELSTEIN R R, GAMPALA S S L, ROCK C D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings[J]. *Plant Cell*, 2002, 14: S15-S45.
- THOMPSON A J, JACKSON A C, SYMONDS R C, et al. Ectopic expression of a tomato 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene causes over-production of abscisic acid[J]. *Plant J*, 2000, 23: 363-374.
- XIONG L M, ZHU J K. Regulation of abscisic acid biosynthesis[J]. *Plant Physiol*, 2003, 133(1): 29-36.
- XIONG L, GONG Z, ROCK C D, et al. Modulation of abscisic acid signal transduction and biosynthesis by an Sm-like protein in *Arabidopsis*[J]. *Dev Cell*, 2001, 1(6): 771-781.
- THOMPSON A J, JACKSON A C, PARKER R A, et al. Abscisic acid biosynthesis in tomato: regulation of zeaxanthin epoxidase and 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase mRNAs by light/dark cycles, water stress and abscisic acid[J]. *Plant Mol Biol*, 2000, 42: 833-845.
- CUTLER A, KROCHKO J. Formation and breakdown of ABA[J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4: 472-478.
- IUCH S, KOBAYASHI M, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, et al. A stress-inducible gene for 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase involved in abscisic acid biosynthesis under water stress in drought-tolerant cowpea[J]. *Plant Physiol*, 2000, 123: 553-562.
- ZHANG W, YU L, ZHANG Y, et al. Phospholipase D in the signaling networks of plant response to abscisic acid and reactive oxygen species[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1736(1): 1-9.
- KROCHKO J E, ABRAMS G D, LOEWEN M K, et al. (+)-Abscisic acid 8-hydroxylase is a cytochrome P450 monooxygenase[J]. *Plant Physiol*, 1998, 118: 849-860.
- HAMPSON C R, REANEY M J T, ABRAMS G D, et al. Metabolism of (+)-abscisic acid to (+)-7-hydroxyabscisic acid by bromegrass cell cultures[J]. *Phytochemistry*, 1992, 31: 2645-2648.
- ZHOU R, CUTLER A J, AMBROSE S J, et al. A new abscisic acid catabolic pathway[J]. *Plant Physiol*, 2004, 134: 361-369.
- ZOU J, ABRAMS G D, BARTON D L, et al. Induction of lipid and deoxin biosynthesis by (+)-abscisic acid and its metabolites in microspore-derived embryos of *Brassica napus* L. cv Reston[J]. *Plant Physiol*, 1995, 108: 563-571.
- OGATA Y, IIZUKA M, NAKAYAMA D, et al. Possible involvement of abscisic acid in the induction of secondary somatic embryogenesis on seed-coat-derived carrot somatic embryos[J]. *Plant*, 2005, 221(3): 417-423.
- BARRERO J M, PIQUERAS P, GONZALEZ GUZMAN M, et al. A mutational analysis of the ABA1 gene of *Arabidopsis thaliana* highlights the involvement of ABA in vegetative development[J]. *J Exp Bot*, 2005, 56(418): 2071-2083.