

· 专题论坛 ·

# 广义蕨类植物基因功能研究概述

王凤攀<sup>1</sup>, 仲昭暄<sup>1,2</sup>, 陈利君<sup>1</sup>, 舒江平<sup>1</sup>, 严岳鸿<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>深圳市兰科植物保护研究中心, 兰科植物保护与利用国家林业和草原局重点实验室, 深圳 518114

<sup>2</sup>东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030

**摘要** 广义蕨类植物(石松类和蕨类)是陆生维管植物第二大类群, 兼具孢子植物和维管植物的结构和生理特点, 衔接陆生植物从简单到复杂的演化过程。广义蕨类植物表现出许多不同于其它植物类群的独特生物学过程, 在研究植物基因组演化、器官发育、繁殖方式及环境适应等方面是一类关键的植物类群。现代测序技术的快速发展和应用推动了广义蕨类植物全基因组测序和组装, 为其基因功能研究提供了巨大便利。为充分认识广义蕨类植物基因功能研究的热点和难点, 该文从多角度全面总结了广义蕨类植物基因功能研究, 重点论述广义蕨类植物在器官发育、生殖过程、环境适应性和次生代谢物合成等方面的研究现状, 系统阐述其在揭示广义蕨类植物特殊生物学过程中的应用及各类基因的功能。最后, 对如何加快广义蕨类植物基因功能研究, 并利用相关研究揭示其生物学特性和开发更广泛的应用场景提出了建议。

**关键词** 蕨类, 石松类, 基因, 功能研究, 生物学特性

王凤攀, 仲昭暄, 陈利君, 舒江平, 严岳鸿 (2024). 广义蕨类植物基因功能研究概述. 植物学报 59, 495–514.

广义蕨类植物(石松类和蕨类, 以下简称蕨类植物)是陆生植物最早演化出维管结构的古老植物类群, 与种子植物是姊妹群, 在全球植物物种演化过程中发挥承前启后的衔接作用(严岳鸿等, 2019)。与种子植物相比, 蕨类植物孢子体-配子体世代交替, 器官结构简单, 生境偏好性强, 与人类生活的直接关联度较低, 受关注度远低于被子植物。21世纪初, 分子测序技术快速迭代发展, 将生命科学研究带入基因组和后基因组时代, 极大地推动了分子生物学在植物研究领域的发展。目前, 在分子生物学领域, 以蕨类植物为研究对象的基础研究和应用基础研究较少, 远少于被子植物, 相比水生藻类和苔藓类植物也有所不及。究其原因, 一方面是蕨类植物在人类现代工业和农业生产体系中地位不显著, 不受重视; 另一方面, 蕨类植物倍性复杂, 染色体数目多, 基因组庞大(Wang et al., 2022), 结构简单, 遗传转化体系不成熟, 这些都限制了蕨类植物成为模式植物。尽管如此, 蕨类植物以其特殊的系统演化地位和庞大的物种数量, 在现代分子生物学研究领域仍占有一席之地(Kinosian and

Wolf, 2022)。目前, 蕨类植物的基因功能研究主要包括配子体性别决定(Tanaka et al., 2014; Atallah and Banks, 2015)、无性生殖(Bui et al., 2017)、分生组织起始和发育(Geng et al., 2021, 2022)、叶形态发育(Vasco et al., 2016; Cruz et al., 2020; Vasco and Ambrose, 2020)、根的起始(Yu et al., 2020)、有毒金属胁迫(Ma et al., 2001; Cai et al., 2019)以及生物活性成分合成(Nett et al., 2021)等(图1)。本文以此为重点, 回顾功能基因组学在揭示蕨类植物生命活动规律中的应用, 从基因功能角度解析蕨类植物特有的生物学过程及其分子机理; 以期深入认识蕨类植物在探索生命科学道路上的特殊地位, 并重视蕨类植物分子生物学研究。

## 1 蕨类植物全基因组学研究

解析植物全基因组序列是从遗传的全局角度理解基因的功能及数目演化、新基因的起源、通路相关基因的出现或丢失等关键生物演化事件, 而蕨类植物是研究基因演化过程的重要节点类群。与被子植物

收稿日期: 2023-07-08; 接受日期: 2023-12-19

基金项目: 深圳市科技计划(No.JCYJ20220818103212025)

\* 通讯作者。E-mail: yhyan@sibs.ac.cn

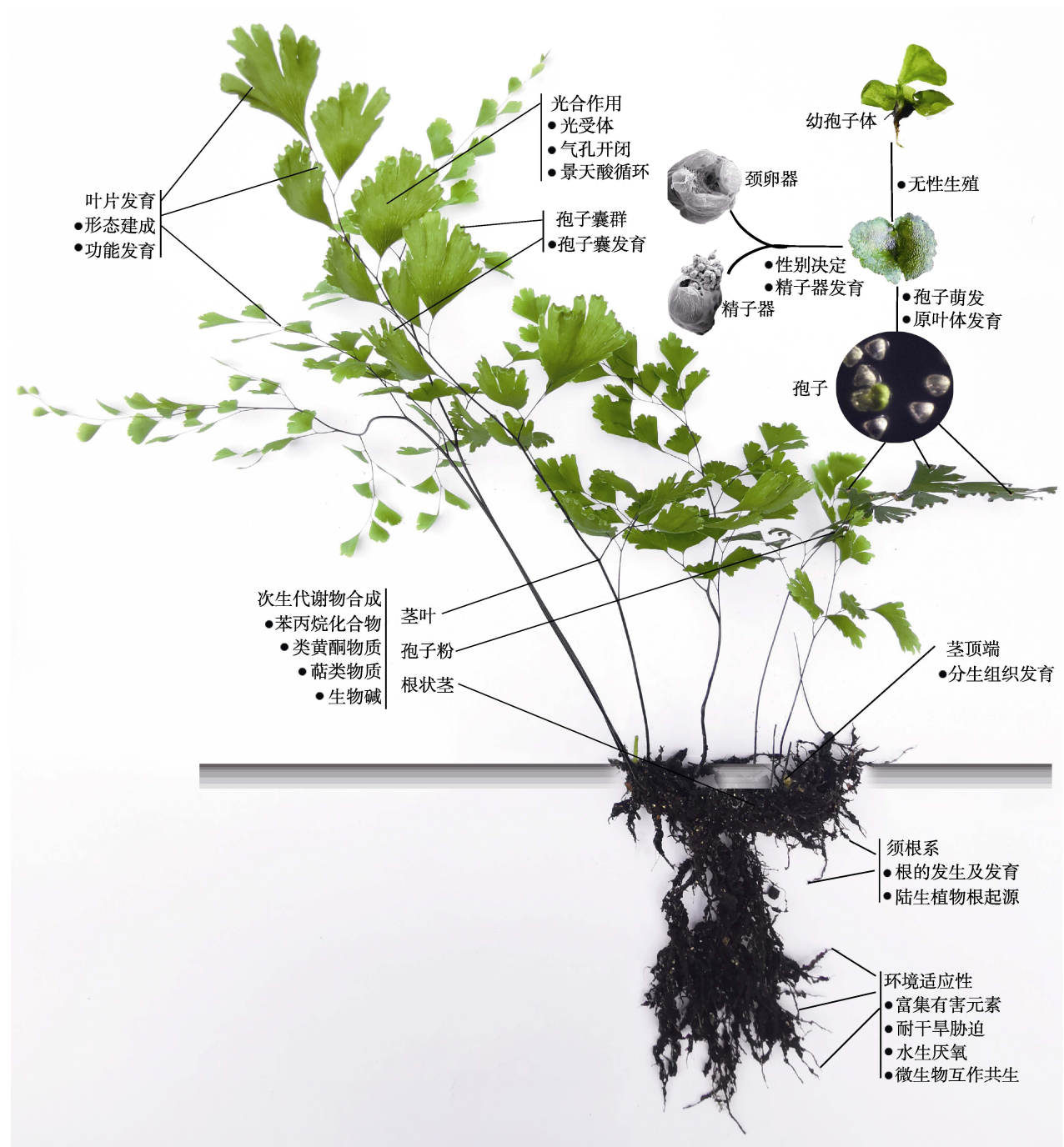


图1 广义蕨类植物不同生物学过程的相关基因功能研究

Figure 1 Functional studies on the genes involved in different biological processes in pteridophytes

相比，蕨类植物的基因组普遍较大(Wang et al., 2022)，且染色体数目多，导致该类群物种染色体级别的全基因组测序和组装难度较高(图2)。截至2023年10月，共有8种石松类和6种蕨类物种完成全基因组测序和组装(Marks et al., 2021; Sun et al., 2022)

(<https://www.plabipd.de/>); 其中包括石松目(Lycopodiales) 1种，卷柏目(Selaginellales) 4种，水韭目(Isoetales) 3种，桫欏目(Cyatheaales) 1种，槐叶蘋目(Salviniales) 2种，水龙骨科(Polypodiales) 3种(表1)。这些物种基因组相对较小，基本能够代表

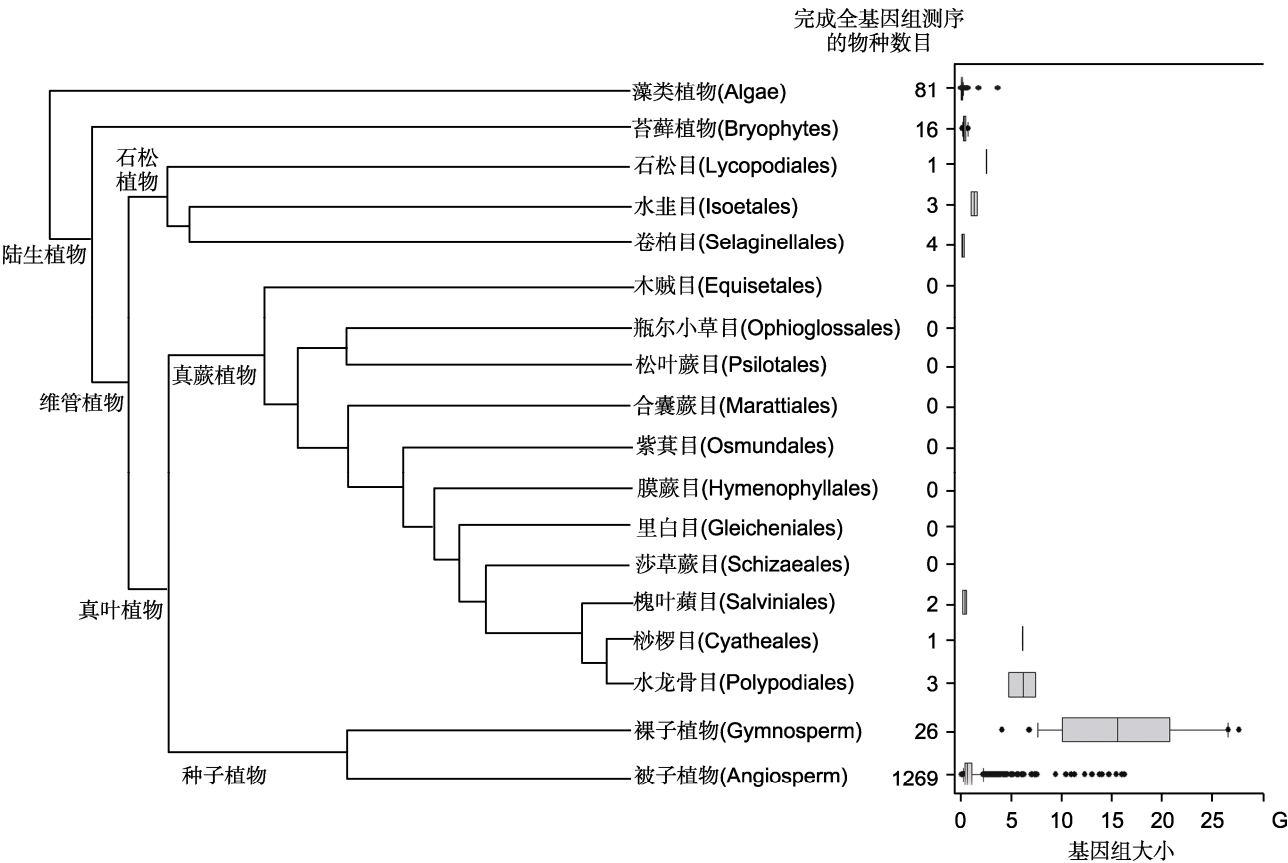


图2 完成全基因组测序的植物物种数目和基因组大小

Figure 2 The number of plant species with genome sequenced and their genome size

表1 已发表全基因组序列的广义蕨类植物

Table 1 Pteridophytes with whole-genome sequence published

编号	物种	基因组大小(M)	染色体数目(n)	全基因组重复事件(次)	重复序列占比(%)	基因数目	生境	是否叶两型	孢子类型	参考文献
1	江南卷柏( <i>Selaginella moellendorffii</i> )	212.6	10	0	—	22285	陆生	否	异型	Banks et al., 2011
2	翠云草( <i>S. kraussiana</i> )	115	—	—	—	—	陆生	否	异型	Ge et al., 2016
3	卷柏( <i>S. tamariscina</i> )	301	—	—	60.22	27761	陆生	否	异型	Xu et al., 2018
4	膜叶卷柏( <i>S. lepidophylla</i> )	109	—	—	—	27204	陆生	否	异型	VanBuren et al., 2018
5	细叶满江红( <i>Azolla filiculoides</i> )	750	22	2	53.6	20201	水生	否	异型	Li et al., 2018a
6	勺叶槐叶蕨( <i>Salvinia cucullata</i> )	260	9	1	44.5	19914	水生	否	异型	Li et al., 2018a
7	台湾水韭( <i>I. taiwanensis</i> )	1658.3	11	1	38	39461	水生	是	异型	Wickell et al., 2021
8	中华水韭( <i>I. sinensis</i> )	2131.8	22	2	63.15	57303	水生	否	异型	Cui et al., 2023
9	荷叶铁线蕨( <i>Adiantum nelumboides</i> )	1977.1	60	1	81.7	69568	陆生	否	同型	Zhong et al., 2022
10	美洲水蕨( <i>Ceratopteris richardii</i> )	7463.3	39	2	85.2	36875	水生	是	同型	Marchant et al., 2022
11	桫欏( <i>Alsophila spinulosa</i> )	6230	69	2	75.15	67831	陆生	否	同型	Huang et al., 2022
12	铁线蕨( <i>Adiantum capillus-veneris</i> )	4830	30	0	85.25	31244	陆生	否	同型	Fang et al., 2022
13	东北石松( <i>Lycopodium clavatum</i> )	2304.7	—	2	85.32	23292	陆生	否	同型	Yu et al., 2023

— 未知 — Unknown

多数蕨类植物。东北石松(*Lycopodium clavatum*)、卷柏(*Selaginella* spp.)和水韭(*Isoetes* spp.)属于石松类, 细叶满江红(*Azolla filiculoides*)、勺叶槐叶蕨(*Salvinia cucullata*)和美洲水蕨(*Ceratopteris richardii*)代表水生蕨类, 卷柏、水韭、细叶满江红和勺叶槐叶蕨为异型孢子。东北石松、美洲水蕨、铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris*)和桫欏(*Alsophila spinulosa*)为同型孢子, 桫欏是高大直立树状蕨类植物, 美洲水蕨孢子体叶片具两型。目前, 8个目级蕨类植物完成全基因组测序和组装的物种还是空白(图2)。以三代测序技术的通量和深度, 基因组大和染色体片段化程度高仍将是阻碍蕨类植物全基因组测序的主要因素。

## 2 蕨类植物器官起始与发育

### 2.1 分生组织发育

蕨类植物是现存最古老的陆生维管植物, 有根茎叶分化明显的器官结构。研究蕨类植物等早期维管植物关键基因的表达模式变化对于揭示植物器官起源、进化和发育有重要作用(Kinosian and Wolf, 2022)。HAM (HAIRY MERISTEM)调节植物分生组织发育以及干细胞稳态, 在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)突变体*ham123*的茎顶端分生组织中表达江南卷柏(*S. moellendorffii*) *SmHAM*和美洲水蕨*CrHAM*, 能够恢复*ham123*无分枝的发育缺陷, 说明HAM在早期维管植物中已经存在并具有与种子植物类似的功能(Geng et al., 2021)。Geng等(2022)利用*SmHAM*的启动子和终止子驱动Histone2B-GFP标记蛋白, 探究了美洲水蕨配子体分生组织的起始、分化和发育, 以及决定分生组织细胞分裂活性的生物学因素, 发现蕨类植物具有与被子植物不同的分生组织结构和发育模式。

WOX (WUSCHEL-RELATED HOMEBOX)是被子植物分生组织发育的核心调节因子。Liu和Xu (2018)推测植物根的起始演化事件与IC-WOX基因演化存在直接关联, 即从石松类的二歧根到简单真叶植物的不定根须根再到种子植物的侧根主根系统, 每当植物根结构发生根本改变时, IC-WOX及其同源基因为这种形态改变提供分子基础。*CrWOXB*是美洲水蕨器官形成的关键基因, 沉默*CrWOXB*使美洲水蕨叶片和根系数目减少(Youngstrom et al., 2019)。生长素(IAA)类似物2,4-二氯苯氧乙酸和毒莠碱诱导美洲水

蕨孢芽产生大量不定根, 而施用生长素极性运输抑制剂萘草胺(naphthylphthalamic acid)或生长素信号转导阻断剂(auxinole)都会减少美洲水蕨孢芽不定根的发生。分子生物学和遗传学研究表明, 生长素通过2个WOX基因(*CrWOXA*和*CrWUL*)介导美洲水蕨孢芽根组织的起始(Yu et al., 2020)。*CrWUL*能互补拟南芥*atwox4*突变体维管结构发育缺陷的表型, 表明WOX参与植物维管组织发育的功能在蕨类植物中已经存在(Youngstrom et al., 2022)。

### 2.2 叶片形态建成

目前, 有关陆生维管植物叶起源的解释有2种假说: 突起学说和顶枝学说(Wilson, 1953)。突起学说认为石松类植物的小型叶起源于茎轴表面的突起体, 而顶枝学说认为大型叶和小型叶都是由原始复合顶枝的次要二叉分枝经耸出、联合及扁化发展而来。蕨类植物的器官结构简单, 但叶片形态丰富, 其复杂程度不低于被子植物, 是研究植物叶片起源和形态建成的理想材料。新的分子证据表明, 植物小型叶和大型叶的形成可能由相同的发育机制调控。通过研究KNOX (*KNOTTED1-LIKE HOMEBOX*)和ARP (*ASYMMETRIC LEAVES1*, *ROUGH SHEATH2* and *PHANTASTICA*)在翠云草(*Selaginella uncinata*)和欧紫萁(*Osmunda regalis*)分生组织中的表达, 发现KNOX和ARP在茎顶端分生组织共表达促进分枝产生, 在叶原基共表达导致出现复杂叶(Harrison et al., 2005)。在拟南芥中分别过表达美洲水蕨*CrKNOX1*和*CrKNOX2*, 所得转基因拟南芥的叶片形态均发生显著改变, 叶片边缘出现类似美洲水蕨叶片的深度裂刻(Sano et al., 2005)。野胡萝卜(*Daucus carota*)、白粉藤(*Cissus congestus*)、佛罗里达泽米(*Zamia floridans*)以及翠蕨(*Anogramma chaephylla*)的叶片均具有复杂结构, 通过比较植物KNOXI (I类)在叶原基的表达模式, 研究者认为蕨类植物和被子植物复杂叶片经历相对独立的演化历程(Bharathan et al., 2002)。同样地, 通过比较舌蕨属(*Elaphoglossum* spp.) 3个不同种*E. lloense* (简单叶)、*E. peltatum* f. *standleyi* (简单叶)和*E. peltatum* f. *peltatum* (复杂叶) KNOXI在叶原基的表达模式, 发现叶原基裂刻中KNOXI的持续表达与叶片复杂结构的形成有关, 但KNOXI不是决定叶片复杂结构形成的唯一遗传因素(Vasco and Am-

brose, 2020)。Cruz等(2020)在*Mickelia scandens*中鉴定到3个KNOX基因, 其中*MsC1KNOX1*和*MsC1KNOX2*在茎顶端分生组织、原形成层以及叶顶端分生组织和间叶分生组织中表达, 参与叶片发育。综上所述, KNOX在调节蕨类植物叶片形态发育方面具有保守性, 与其它遗传因子共同调节叶片形态建成。

蕨类植物孢子萌发后由单个细胞发育成单层多细胞的原叶体, 此发育过程为研究植物细胞极性生长和器官发育提供了天然材料。通过比较*Dryopteris affinis* ssp. *affinis*一维(丝状体)到二维(原叶体)的转录组时空变化, 研究人员鉴定到一些差异表达基因, 参与分生组织发育、生殖过程、生长素信号转导和糖代谢等生物学过程(Wyder et al., 2020)。维管植物的叶片背腹性由复杂的基因网络调控, *tasiR-ARF*和*ARF3/4*是其中有直接关联的调控模块。通过鉴定粗梗水蕨(*C. pteridoides*)、贵州贯众(*Cyrtomium guizhouense*)和中日金星蕨(*Parathelypteris nipponica*)的*ARF*基因, 发现3种蕨类植物都只有1个*ARF4*基因。与被子植物类似, 蕨类*ARF4*只在叶片远轴端表达, 但*ARF4*基因序列上的*tasiR-ARF*绑定位点数量少于被子植物(Sun and Li, 2020)。

### 3 蕨类植物配子体生殖相关基因

#### 3.1 植物激素参与配子体性器官发育

蕨类植物孢子体和配子体独立存活, 共同完成世代交替; 绝大多数蕨类植物属同型孢子, 其配子体成熟后产生精子囊和颈卵器, 配子体性别分化是蕨类植物实现有性生殖过程的关键(Kinosian and Wolf, 2022)。通常认为成精子囊素(antheridiogen)是调节多数蕨类配子体性器官发育的信息素(Jiménez et al., 2008)。为提高后代个体的遗传多样性, 蕨类植物早成熟的同型配子体释放赤霉素类似物成精子囊素, 诱导晚成熟的配子体分化出更多的精子器, 并抑制颈卵器的产生, 最终提升配子体间的杂交概率。Banks (1997)和Strain等(2001)利用化学和物理诱变技术获得美洲水蕨性别发育突变体, 并分析了性别决定基因*TRA*、*FEM*和*HER*与成精子囊素的关系, 结果表明成精子囊素可能是调控这些基因表达的信号分子。Tanaka等(2014)系统揭示了成精子囊素合成及调控配子体

性别发育的分子机制, 他们在鉴定海金沙(*Lygodium japonicum*)赤霉素(GA)代谢和信号途径相关基因的基础上, 发现种群中早成熟的配子体通过LjCPS/KS、LjKO、LjKAO及LjGA20ox等酶合成中间产物GA<sub>9</sub>, 进而合成GA<sub>9</sub>甲酯(成精子囊素的主要成分)并释放到周围环境中, 附近晚成熟的幼配子体吸收后利用LjGA3ox1合成有活性的GA<sub>4</sub>, 被LjGID1-1感知后激活LjDELLA1介导的GA信号, 分别促进和抑制原叶体产生雄配子和雌配子。根据性别决定基因*TRA*、*FEM*和*HER*的功能以及赤霉素和成精子囊素(GA<sub>9</sub>甲酯)的相似性, 推测*HER*与*GDI*或者*SLY1*同源, *TRA*编码DELLA类似蛋白, 而*FEM*是GAMYB类转录因子。Atallah和Banks (2015)认为GA及其信号途径是蕨类配子体性别决定的关键调节因子。

脱落酸(ABA)参与植物的配子体发育。SnRK2 (SNF1-related kinase2)是ABA信号通路的核心调节因子。为探明ABA-SnRK2信号通路在蕨类植物中的起源与演化过程, McAdam等(2016)通过筛选对ABA不敏感的美洲水蕨突变体, 鉴定到1个*SnRK2*的同源基因*CrGAIA1*; 功能验证表明ABA-CrGAIA1信号通路参与美洲水蕨配子体性别分化和孢子萌发, 这与ABA-SnRK2信号通路在种子植物中的功能类似, 不同的是ABA-CrGAIA1不能调节美洲水蕨叶片气孔运动。铁线蕨*AtLEC1*及相关基因*AdcFUS3*和*AdcABI3*在同型孢子囊中共表达, 该分子模块可能通过同化物积累参与同型孢子囊的发育过程(Fang et al., 2022)。GA与ABA在调节种子植物一些生物学过程时存在功能拮抗现象, 在蕨类植物中二者如何调节配子体性别分化有待深入研究。

#### 3.2 无性生殖与生殖器官发育

无性生殖在蕨类植物中普遍存在, 高糖培养基能诱导蕨类配子体产生无性孢子体(Cordle et al., 2007)。在美洲水蕨配子体中过表达*CrANT*能诱导无性生殖, 而沉默*CrANT*的配子体受葡萄糖诱导无性孢子体的数量显著减少, 表明*CrANT*介导糖诱导的蕨类植物无性生殖调控过程(Bui et al., 2017)。在水生蕨草(*Marsilea vestita*)的雄性孢子体中, *kinesin-2*、*kinesin-9A*和*kinesin-9B*基因的mRNA丰度较高, 研究发现这些基因行使不同的生物学功能, 共同参与精细胞的分裂、分化、成熟、纤毛定位和纤毛延伸(Tomei and

Wolniak, 2016)。

## 4 蕨类植物特殊环境适应性的分子基础

### 4.1 荫蔽适应性机制

种子植物尤其是高大乔木大量出现后迅速占领地球陆地部分的上层生存空间, 矮小的蕨类植物只能与其它灌木一起竞争林下荫蔽生存空间。为适应少光黯淡的生境, 部分蕨类植物演化出特有的适应机制。Kawai等(2003)发现铁线蕨光受体突变体*rap* (*phy3*)的叶绿体对蓝光和暗白光敏感性降低, 失去原有的向光性。研究表明, 铁线蕨具有被子植物常见的光受体PHOT1和PHOT2, 但*phy3*结构异于上述光受体, 且普遍存在于水龙骨科蕨类植物*Dryopteris filix-mas*、*Onoclea sensibilis*和*Hypolepis punctata*中, 在简单蕨类(欧紫萁和海金沙)和种子植物中未发现*phy3*的同源基因。研究者认为*phy3*的起源是真叶蕨类在以种子植物为主的荫蔽森林环境下逆势种群激增的关键遗传条件(Kawai et al., 2003)。

植物通过隐花色素(CRY)感受蓝光并介导蓝光信号转导。CRY基因起源古老, 存在于从绿藻到种子植物的所有植物中(Cai et al., 2021)。蕨类植物CRY同源基因数目差异较大, 桫欏有6个CRYs (Hong et al., 2022), 铁线蕨有5个CRYs (Imaizumi et al., 2000), 云南铁角蕨(*Asplenium yunnanense*)有3个CRYs (Zhou et al., 2013)。系统演化分析表明, 植物演化过程中CRY共经历4次基因重复事件, 前2次发生在水龙骨科蕨类出现以前, 苔藓植物和被子植物一般有2–3个CRYs; 而另2次基因重复事件集中发生在水龙骨科蕨类出现时, 使得水龙骨科蕨类有更多的CRY基因(5–6个)。与之相比, 其它光受体基因数目在水龙骨科并未发生大的改变, 水龙骨科蕨类植物中CRY基因扩张可能与其适应林下弱光环境有关(Cai et al., 2021)。不同的CRY对蓝光信号响应不同, 美洲水蕨隐花色素基因*CrCRY1*、*CrCRY2.1*、*CrCRY2.2*、*CrCRY3*和*CrCRY5*的表达受蓝光抑制, 而*CrCRY4*的表达受蓝光诱导(Cai et al., 2021), 这可能与CRY基因介导的光形态建成有关。

鹿角蕨(*Platycerium bifurcatum*)为兼性光合植物, 孢子叶进行C<sub>3</sub>循环, 营养叶进行弱景天酸代谢(CAM)。转录组数据表明, 蓝光受体基因CRY在两类

叶片中的表达量无显著差异, 而另一个参与蓝光介导的气孔开闭基因*PHOT2* (*PHOTOTROPIN 2*)表达量亦无差异, 推测蓝光信号可能与这种兼性光合机制无关(Li et al., 2023)。与保卫细胞运动相关的基因, 如*PP2A*、*PP2C*、*OST1* (*OPEN STOMATA 1*)、*RBOHD* (*RESPIRATORY BURST OXIDASE HOMOLOG*)及*RBOHF*可能参与鹿角蕨营养叶气孔的夜间开放, 使之能进行CAM (Li et al., 2023)。桫欏具有蕨类植物少见的直立粗壮根状茎。Hong等(2022)对桫欏的根、叶柄和羽叶进行转录组测序, 鉴定到植物光受体(*PHY*、*PHOT*、*CRY*、*ADO1*和*UVR8*)、气孔开闭相关的离子通道蛋白、ABA合成和信号转导(*ZEP*、*NCED*、*SDR*、*PYR/PYL*、*PP2C*和*SnRK2*)等功能基因, 为后续研究奠定了基础。

### 4.2 蕨类植物砷超富集分子机理

砷是有色和贵金属的伴生元素, 传统采矿作业常引发矿区土壤砷污染。Ma等(2001)报道了凤尾蕨科蜈蚣草(*Pteris vittata*)的砷超富集特性, 该研究不仅建立了植物耐有毒元素胁迫的新体系, 也加深了人们对蕨类植物环境适应性的认知。此后, 各国科研人员共同致力于揭示蜈蚣草耐砷胁迫和富集砷元素的分子机理, 在探索砷元素的吸收、转运、还原和区隔化等方面取得了诸多研究成果。

#### 4.2.1 砷元素的吸收和转运

Yan等(2019)总结有6类蛋白参与蜈蚣草中砷化合物的转运, 包括ACR3 (arsenical compound resistance 3)、ABC亚家族、P-type ATPase、MFS亚家族(major facilitator superfamily)、MIP (major intrinsic protein)和NRT3亚家族(nitrate transporter 3)。PvACR3是定位在液泡膜上的砷酸盐转运蛋白, 受砷胁迫诱导表达; 它将砷酸盐转运至液泡内并区隔化, 保护细胞免受砷毒害(Indriolo et al., 2010)。在拟南芥中异源过表达PvACR3能显著提高转基因拟南芥的砷耐受性和砷富集(Chen et al., 2013)。但该基因在被子植物中丢失, 这可能是被子植物普遍不耐砷胁迫的原因之一。PvACR3的另外2个同源基因PvACR3;2和PvACR3;3分别定位于质膜和液泡膜, 负责亚砷酸盐的长距离运输和区隔化(Chen et al., 2021)。与蜈蚣草近缘的凤尾科(Pteridaceae)植物凤尾蕨(*P. cretica*) PcACR3



基因与*PvACR3*功能类似(Popov et al., 2021)。水通道蛋白*PvTIP4;1*定位于质膜,在蜈蚣草根特异性表达,异源表达后促进拟南芥根系对亚砷酸盐的吸收(He et al., 2016)。*Pht1* (phosphate transporter 1)是一类磷酸盐转运蛋白。DiTusa等(2016)在蜈蚣草中鉴定到3个*PvPht1*基因,分别是*PvPht1;1*、*PvPht1;2*和*PvPht1;3*。其中*PvPht1;3*基因表达响应磷亏缺和砷酸盐胁迫,有高砷酸盐亲和性,能使酵母积累更多的砷酸盐。*PvPht1;3*可能是蜈蚣草具备超砷富集能力的关键因子。Feng等(2021)在蜈蚣草中鉴定到磷酸盐转运蛋白*PvPht2;1*,*PvPht2;1*基因定位于叶绿体被膜,在茎叶中高表达,但不响应磷亏缺和砷胁迫;砷胁迫条件下*PvPht2;1*过表达拟南芥未富集砷化物,但地上部茎叶和叶绿体中的磷元素含量升高;研究发现*PvPht2;1*促进磷元素进入叶绿体保护植物的光合系统,以减轻砷毒害。

#### 4.2.2 砷元素的还原

蜈蚣草根系从根际环境吸收2种砷化物:砷酸盐和亚砷酸盐(Ma et al., 2001)。砷酸盐主要存在于蜈蚣草根系,亚砷酸盐主要存在于蜈蚣草根状茎和地上部组织(Mathews et al., 2010)。根吸收的砷酸盐一般被还原为亚砷酸盐,亚砷酸盐还原酶催化该过程,如HACs (high as contents)、*PcACR2*和*PvGSTF1* (Xu et al., 2007; Sánchez-Bermejo et al., 2014; Cai et al., 2019; Popov et al., 2021)。蜈蚣草根系吸收砷酸盐向上转运至根状茎,*PvHAC1*将砷酸盐还原为亚砷酸盐,之后转运至地上部;*PvHAC2*则在地上部叶中具有砷酸盐还原酶活性(Li et al., 2020)。蜈蚣草中与砷富集相关的基因*PcACR2*和*PvGSTF1*则分别在细胞质和囊泡中将砷酸盐还原为亚砷酸盐(Cai et al., 2019; Popov et al., 2021)。此外,蜈蚣草*PvGRX5*具有砷酸盐还原酶活性,*PvGRX5*过表达植株通过降低植物叶片砷化物浓度来提高转基因拟南芥的砷耐受性(Sundaram et al., 2009)。

基于已有的研究成果,Cai等(2019)提出蜈蚣草利用一种类似细菌耐砷胁迫的作用机制富集砷元素,其中*PvGAPC1*负责将游离态砷酸盐转换成结合态,*PvOCT4*将结合态砷化物转入囊泡中,之后结合态砷化物水解为砷酸盐,*PvGSTF1*催化砷酸盐还原为亚砷酸盐,最终亚砷酸盐被富集到液泡中(Zhang et al.,

2022)。目前,蜈蚣草等蕨类植物耐砷分子机理研究集中在砷吸收、还原和转运相关结构基因(图3),对于参与蜈蚣草耐砷调节因子(转录因子、microRNA、核酸或蛋白修饰基因、lncRNA和小肽)及作用机制有待深入探究。

#### 4.3 耐旱分子机制

石松类植物卷柏和一些蕨类具有极强的耐旱性(Al-ejo-Jacuin and Herrera-Estrella, 2022),有些种甚至能维持脱水状态几十年(失水>95%),获取水分后依然能复活。相关研究多集中于耐旱蕨类植物从脱水状态到吸水复活过程中生理和组织结构变化(McAdam and Brodribb, 2013; Prats and Brodersen, 2021),而从基因功能角度解释卷柏和蕨类耐旱分子机理的研究较少,仅有少数针对这一生物学特性的组学研究。VanBuren等(2018)和Yobi等(2013)分别利用比较基因组和代谢组从全基因组及差异代谢物角度解析了卷柏吸水复活的分子机制与物质基础。Ostria-Gallardo等(2020)利用转录组分析2种膜蕨属植物(*Hymenophyllum caudiculatum*和*H. dentatum*)的正常-脱水-复水过程中的差异表达基因,但未进行基因功能验证。

干旱胁迫下,种子植物通过脱落酸(ABA)介导的细胞膨压变化主动调节叶片气孔关闭,减少水分流失,但蕨类植物叶片气孔关闭与ABA间的关系仍存在争议。干旱处理使食蕨(*Pteridium esculentum*)、*Dicksonia antarctica*和翠云草叶片气孔关闭,ABA含量升高,但二者并无关联(Cardoso et al., 2019);干旱处理后复水,上述蕨类植物叶片的气孔随即打开,此时叶片中ABA的含量依然很高。McAdam和Brodribb (2012)认为是叶片水势被动(非ABA主动)控制蕨类植物叶片气孔的开闭过程。与之不同,基因组研究表明,水生蕨类(细叶满江红和勺叶槐叶蕨)具有拟南芥ABA受体和跨膜转运相关的23个基因家族所有同源基因,这些基因均与气孔开闭有关(Cai et al., 2017)。用外源ABA处理耳蕨(*P. proliferum*)和肾蕨(*Nephrolepis exaltata*)使其叶片气孔关闭,气孔导度显著降低,且存在剂量效应。用ABA处理耳蕨后,叶片下表皮中40个ABA相关基因的表达量发生改变。研究者认为ABA介导的气孔主动开闭在蕨类植物(至少是部分蕨类植物)和种子植物中保守(Cai et al., 2017)。Plackett等(2021)发现在预处理(不浇水或外施ABA)后美洲水

蕨气孔能够主动闭合,此时参与气孔关闭及ABA信号通路的相关基因表达量发生改变,这与有花植物拟南芥气孔主动关闭引发相关基因的表达量改变相似,二者在分子响应层面存在共性,据此推测现有维管植物的祖先已进化出气孔主动关闭这一生理特性。

#### 4.4 对植物激素和胁迫的响应

IAAs和细胞分裂素(CTKs)协同调控植物根系发育,用外源IAA和CTK处理细叶满江红根系后,根分生组织细胞数目分别减少和增多,根细胞壁合成相关基因(*CYP71A20*、*EXPANSIN*、*ABCB15*、*TOR1*、*IRX12*和*BAT1*)的表达量发生改变,IAA (*AfPINs*、*AfAUX*、*AfIAAs*和*AfARFs*等)和CTK (*AfAHK3*、*AfCRE1*、*AfAHPs*和*AfARRs*)调动对应的激素信号通路发挥生物学功能(de Vries et al., 2016)。油菜素甾醇(brassinosteroids, BR)是植物六大激素之一,在蕨类植物中无法检测到BR,但能检测到它的直接前体物质油菜素甾酮(Yokota et al., 2017)。油菜素内酯(brassinolide)处理显著抑制扇叶铁线蕨(*A. flabellulatum*)配子体光合作用相关基因的表达,包括光系统I、光系统II、电子传递链和ATP合成。此外,BR合成相关基因也被抑制,如*CYP90B1*、*CYP90C1*、*CYP90D1*、*CPD*和*BR6ox1* (Cai et al., 2022)。外源水杨酸甲酯(MeSA)处理可抑制满江红叶片和根系生长,转录层面上MeSA诱导*AfPDF1.4*表达,而抑制*AfAOS*和*AfPR5*表达(de Vries et al., 2018)。香鳞毛蕨(*D. fragrans*)是药用植物,富含萜类物质。Song等(2022)发现用紫外光B照射香鳞毛蕨叶片可促进萜类化合物积累,其中miR156-DfSPL和miR160-DfARF调控模块在二萜类合成、三萜骨架合成、激素信号转导和甲羟戊酸途径等生物学过程中发挥重要作用。同样,细叶满江红中苯丙烷代谢途径的催化酶基因响应低温胁迫,如*PAL*、*C4H*、*CHS*、*CHI*、*F3'H*、*DFRs*、*FLS/ANS*和*LAR* (Costarelli et al., 2021)。机械损伤可迅速激活铁线蕨茉莉酸(JA)合成途径相关基因,处理后0.5小时*AdcLOX8/14/15/17*、*AdcAOS3/6*、*AdcOPR2/11*和*AdcJAR2/3/4*的表达上调,且这种刺激作用可维持较长时间(Fang et al., 2022)。

## 5 蕨类植物次生代谢物合成途径

次生代谢物是维管植物具备复杂结构和环境适应性

的物质基础。相较于最古老的维管植物,江南卷柏基因组中参与次生代谢物合成的基因数量显著增多,如细胞色素P450单加氧酶(cytochrome P450, CYP-450)、酰基转移酶和萜类合酶(Banks et al., 2011)。这些酶参与苯丙素类、萜类、生物碱、甾体及鞣质等次生代谢物的合成。比较代谢组学研究表明,美洲水蕨中有许多被子植物中无或作用未知的特异性次生代谢物(Marchant et al., 2022),这些物质的生物活性和代谢途径有待深入研究。目前,蕨类植物次生代谢途径相关基因的研究多限于基因鉴定、克隆和序列分析等分子研究的初级阶段,仅有少数基因通过异源遗传转化技术进行功能验证,几乎未见同源功能验证的案例(附表1),这也是蕨类植物基因功能研究亟需解决的难题。此外,已有研究的基因多数是酶基因,仅有少量上游调控基因被鉴定(图3),纵向的上下游调控网络有待深入挖掘。

### 5.1 参与类黄酮合成的结构基因

类黄酮是植物中重要的多酚类次生代谢物,根据其分子结构,可分为黄酮、黄酮醇、黄烷酮、黄烷醇、花青素和单宁6类。花青素是植物界主要的显色次生代谢物之一,蕨类植物富含花青素(陈雪菲等, 2020),其合成涉及众多催化酶。陈雪菲等(2020)利用转录组数据从红盖鳞毛蕨(*D. erythrosora*)中鉴定到2个二氢黄酮醇4脱氢酶(dihydroflavonol 4-reductase, DFR)基因(*DeDFR1*和*DeDFR2*)。体外酶活实验证明它们能催化底物二氢山奈酚和二氢槲皮素。异源表达*DeDFR2*能恢复拟南芥突变体*tt3-1*花青素合成缺陷表型。转录组分析显示,细叶满江红包含原花青素合成的所有功能酶基因,如苯丙氨酸解氨酶(*PAL*)、香豆酸乙酰辅酶A连接酶(*4CL*)、苯丙烯酸羧化酶(*C4H*)、查尔酮异构酶(*CHI*)、查尔酮合酶(*CHS*)、*DFR*、黄烷酮3羟化酶(*F3H*)、黄烷酮3'羟化酶(*F3'H*)、黄酮合酶(*FNS*)、无色花色素还原酶(*LAR*)和花色素合成酶(*ANS*)。酶活实验证明*AzfiLAR-Like*具有催化活性。Güngör等(2021)认为蕨类植物和被子植物的共同祖先包含被子植物原花色素生物合成通路的所有关键酶基因。

香鳞毛蕨有4个香豆酸辅酶A连接酶(4-coumarate: coenzyme A ligase, *4CL*)基因,参与类黄酮的生物合成;这些基因响应低温、高温和紫外光等非生物胁迫



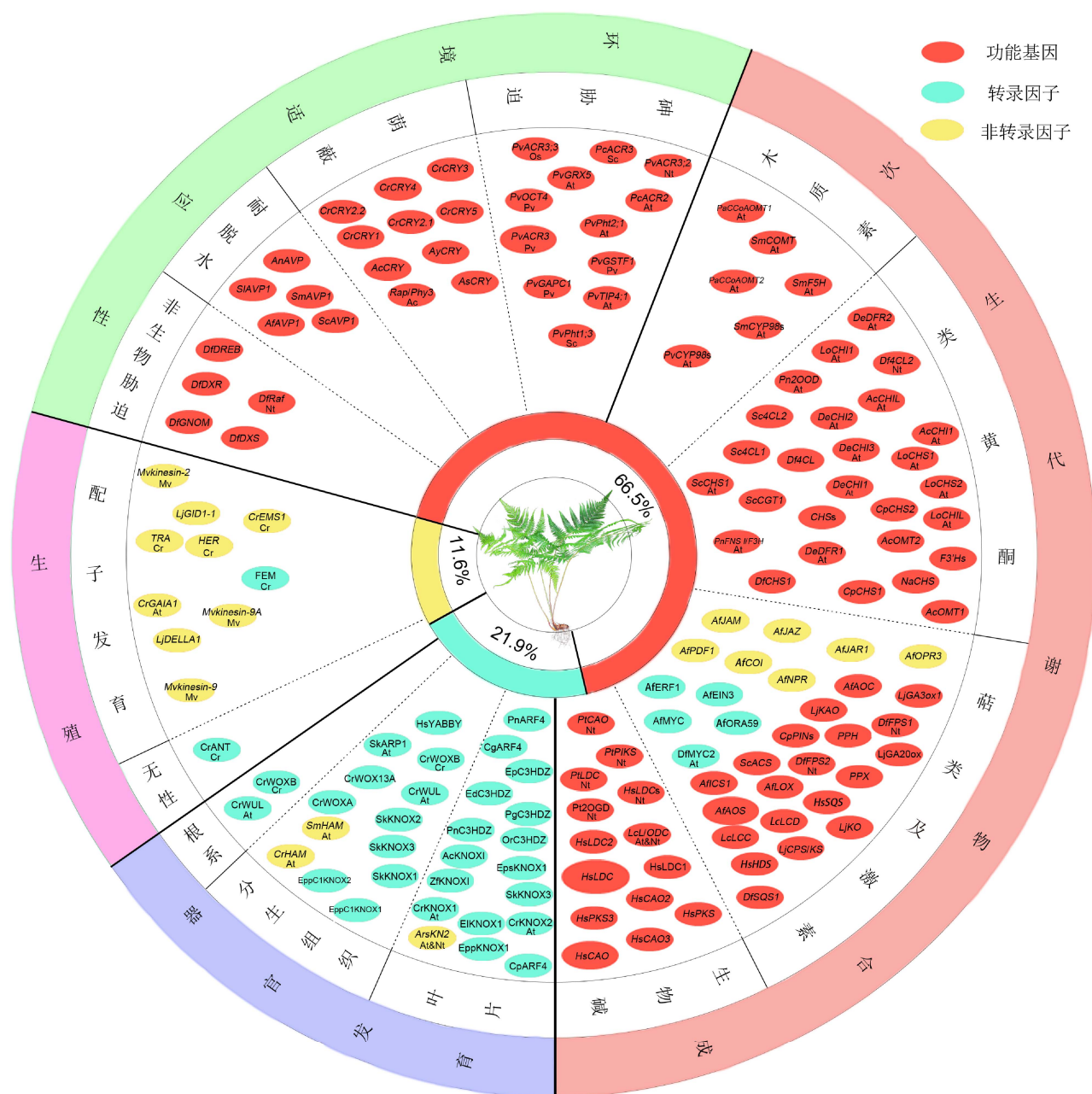


图3 广义蕨类植物基因功能研究概况

Ac: 铁线蕨; At: 拟南芥; Cr: 美洲水蕨; Mv: 水生蕨草; Nt: 烟草; Os: 水稻; Pv: 蜈蚣草; Sc: 酿酒酵母。百分数表示基因类型(转录因子、非转录因子和功能基因)占所有已统计基因的百分比。

Figure 3 Overview of gene function researches in pteridophytes

Ac: *Adiantum capillus-veneris*; At: *Arabidopsis thaliana*; Cr: *Ceratopteris richardii*; Mv: *Marsilea vestita*; Nt: *Nicotiana tabacum*; Os: *Oryza sativa*; Pv: *Pteris vittata*; Sc: *Saccharomyces cerevisiae*. Percentage means the ratio of different gene categories (transcription factor, non-transcription factor and functional gene) in all investigated genes.

迫(Li et al., 2015)。香鳞毛蕨参与类黄酮合成的关键酶(查尔酮合酶DfCHS1及鲨烯合酶DfSQS1)基因的功能也被鉴定(Sun et al., 2014; Gao et al., 2019)。

Niu等(2021)利用代谢组和转录组联合分析在中华毛蕨(*Cyclosorus parasiticus*)中鉴定到2个查尔酮合酶CpCHS1和CpCHS2, 并对其结晶结构、底物结合位

点及重组蛋白催化活性进行研究。黄小芳(2016)在红盖鳞毛蕨中鉴定并克隆了7个F3'H基因,为后续功能研究奠定了基础。

## 5.2 木质素合成的特异性

木质素是由苯丙烷类化合物构成的一种天然酚类聚合物,是维管植物次生细胞壁的主要成分之一;苯丙氨酸或酪氨酸经苯丙酸途径脱氨、羟基化和甲基化等过程最终合成本质素单体。愈创木基类木质素单体主要存在于蕨类植物和裸子植物中(Huang et al., 2022),而丁香酚基木质素单体常见于被子植物中。研究发现,石松类植物卷柏茎秆中富含丁香酚基木质素单体(Weng et al., 2010b)。细胞色素P450单加氧酶是合成丁香酚基木质素的限速酶,卷柏细胞色素单加氧酶F5'H能互补拟南芥F5'H突变体f5'h1-2不能合成丁香酚基木质素单体的缺陷。Weng等(2008)认为F5'H基因在石松类植物和被子植物中功能同源,但起源各自独立。另一个位于F5'H上游的基因SmCOMT与F5'H有类似的组织表达和系统进化特性,二者共同参与卷柏丁香酚基木质素的生物合成(Weng et al., 2011)。上述关键酶基因的趋同进化可能是石松类植物含丁香酚基木质素的主要原因(Weng et al., 2010a)。

体外酶活实验表明,种子植物CYP98 (cytochrome P450 monooxygenase 98)的底物种类丰富,4-香豆酰莽草酸酯是裸子植物火炬松(*Pinus taeda*)PtCYP98的最优催化底物;但是江南卷柏和蜈蚣草CYP98s对底物4-香豆酰莽草酸酯催化效率低,更易催化4-香豆酰邻氨基苯甲酸酯;被子植物CYP98催化底物丰富多样,为其适应复杂多变的生存环境提供了更多保护性物质(Alber et al., 2019)。咖啡酰基辅酶A-3-O-甲基转移酶(CCoAOMTs)是木质素合成的关键酶,友水龙骨(*Goniophlebium amoenum*)含有2个CCoAOMTs,原核表达的GaCCoAOMT1和GaC-CoAOMT2蛋白能甲基化底物咖啡酰基辅酶A,催化效率与紫花苜蓿(*Medicago sativa*)MsCCoAOMT相近(Zhang et al., 2019)。

## 5.3 萜类及植物激素合成

萜类是含有异戊二烯结构单元的烃类及含氧衍生物,是蕨类植物中除类黄酮外含量最丰富的次生代谢物。芒柄花醇是具有对称结构的三萜化合物,已在东北石

松中鉴定到参与芒柄花醇合成的2个酶基因(LCC和LCD) (Araki et al., 2016)。Sripinyowanich等(2021)利用转录组测序技术鉴定到星蕨(*Microsorium punctatum*)和瘤蕨(*M. scolopendria*)参与甲羟戊酸和甾醇合成的功能酶,如乙酰基辅酶A转移酶(AACT)、鲨烯合酶(SQS)、鲨烯单加氧酶(SQE)、羊毛甾醇合酶(LAS)、环菠萝烯醇合酶(CAS)和甾醇14脱甲基酶(CYP51),为植物蜕皮固醇合成提供了前体物质。

除BR外(Yokota et al., 2017),蕨类植物中常见的植物激素有IAA (Sztein et al., 1995)、CTK (Li et al., 2018a)、ABA (McAdam and Brodribb, 2012; Hong et al., 2022)、GA (Tanaka et al., 2014)和乙烯(ETH) (Li et al., 2018b)。有关蕨类植物激素合成代谢的分子研究较少,全基因组测序显示细叶满江红和勺叶槐叶蕨中不存在ETH合成酶基因(ACO),但有数量较少的氨基环丙烷羧酸合酶(ACS),推测蕨类植物中可能存在非酶促ETH合成途径。与蕨类植物相比,种子植物中ACS家族基因数量扩增和ACO基因起源有利于提高其环境适应性(Li et al., 2018b)。水杨酸(SA)和JA是参与植物-环境互作的重要激素,转录组数据显示细叶满江红含有SA和JA合成及信号转导相关基因,表明SA和JA参与蕨类植物的生命活动(de Vries et al., 2018)。与种子植物类似,JA的衍生物JA-Ile是铁线蕨茉莉酸信号的主要活性成分(Fang et al., 2022)。

## 5.4 生物碱合成通路

生物碱是植物体内一类含氮杂环有机化合物。石松碱(即石松类植物生物碱的统称) (Siengalewicz et al., 2013)是蕨类植物生物碱的研究热点。石杉属(*Huperzia*)和马尾杉属(*Phlegmariurus*)植物能特异性合成石杉碱甲。石杉碱甲抑制乙酰胆碱酯酶活性,可用于治疗老年痴呆症。通过探究石杉碱甲的合成通路,发现合成石杉碱甲的关键酶包括赖氨酸脱羧酶(lysine decarboxylase, LDC)、铜胺氧化酶(copper amine oxidase, CAO)、III型聚酮合酶(polyketide synthase III, PKS III)、细胞色素P450单加氧酶(CYP450)和2-氧戊二酸依赖的双加氧酶(FelI/2-oxyglutarate-dependent dioxygenase, 2OGD) (Sun et al., 2012; Bunsupa et al., 2016; Wang et al., 2016, 2020; Xu et al., 2017; Yang et al., 2017; 刘爱佳等, 2021, 2022; Nett et al., 2021; 李赛男等, 2022)。随着全球人口老

龄化程度的加剧, 石杉碱甲类药品的市场需求逐年增长。在不破坏野生资源的前提下, 利用植物工厂或功能性作物生产石杉碱甲是一条新途径, 但要实现天然石杉碱甲的异源生物合成仍有许多基础研究需要开展。

## 6 从蕨类植物家族基因数量和功能变化探索植物演化过程

蕨类植物是地球上较早出现的陆生维管植物, 是研究多成员家族基因起源与演化的关键植物类群; 绿色植物由简单到复杂的演化过程中, 不同物种基因组中家族基因的种类、数目和功能会发生改变。基因组测序显示美洲水蕨MADS-box基因家族有35个成员, 但蕨类植物演化至美洲水蕨这一分支出现时一些特异的MADS-box转录因子丢失(Marchant et al., 2022)。LFY (LEAFY)转录因子基因是调节植物花器官起始的关键基因(Siriwardana and Lamb, 2012)。Rodríguez-Pelayo等(2022)构建了蕨类植物LFY基因的系统进化树, 发现一些特异的基因重复事件, 为研究LFY基因的分化提供了新思路。LFY基因在楔叶铁线蕨(*A. raddianum*)、巨木贼(*Equisetum giganteum*)和江南卷柏的营养叶和生殖叶各发育时期表达, 尤其在早期生殖发育和孢子囊分化时期表达量很高, 说明LFY基因已参与蕨类植物的生殖结构发育(Rodríguez-Pelayo et al., 2022)。KNOX转录因子调节植物的形态发育, 通过分析早期非维管植物类群轮藻(charophytes)、苔类(liverworts)、藓类(mosses)、角苔(hornworts)与维管植物KNOX基因的系统演化关系, 推测KNOX基因的分化(I类和II类)发生在植物登陆过程中。突变体基因功能回补实验证实, 藓类MKN2蛋白比维管植物KNOX蛋白能在更广阔的背景下行使功能(Frangedakis et al., 2017)。KANADI是GARP家族转录因子基因, 其DNA结合域序列在蕨类植物和种子植物中较为保守。原位杂交实验表明, 木贼(*E. hyemale*) *EghKAN1/2/3*基因在远轴端分生组织中表达, 与种子植物类似; 但卷柏叶中*SmKAN1/2/3*基因无极性表达, 与其它蕨类植物和种子植物不同(Zumajo-Cardona et al., 2019)。

ABC (ATP-binding cassette)转运蛋白家族是生物界成员数量最多的蛋白家族之一, 包含众多亚家

族。通过分析主要植物类群的1 295个转录组数据, Lane等(2016)比较了ABC转运蛋白在不同植物类群中的数量及亚家族类别, 表明蕨类植物的ABCA亚家族成员比其它类群少。

miRNAs是基因转录后关键调节因子, 主要通过mRNA剪切和翻译发挥作用, 在各类植物中普遍存在(Yu et al., 2017)。一些保守的miRNAs在维管植物出现以前已经存在, 相较于苔藓植物和早期维管植物(石松类), 狭义蕨类植物和种子植物演化出更多种类和数量的miRNAs, 这可能与它们更复杂的形态结构和更强的环境适应性有关(Berruezo et al., 2017)。

## 7 问题与展望

随着对全球生物多样性保护的关注度越来越高, 作为旗舰类群的蕨类植物其多样性研究任重道远。得益于现代测序技术的快速迭代发展, 基于测序技术的转录组学、质体基因组学和简化基因组学极大地推动了蕨类植物系统分类学研究进程, 厘清了许多关键类群的系统分类关系, 这对于正确认识蕨类植物庞大类群意义重大(严岳鸿等, 2019)。但现代分子生物技术对蕨类植物研究的推动作用不仅体现在系统分类学方面, 以基因功能鉴定为目标的机理研究也是深入认识蕨类植物特殊生物学过程的重要手段。加快蕨类植物基因功能研究还面临一些亟待解决的难题。

### 7.1 模式物种选择和转基因技术

选择合适的模式植物并且获取高质量的全基因组序列是开展基因功能研究的基础。蕨类植物类群繁多, 基因组巨大, 平均基因组大于14 G (Wang et al., 2022), 目前尚无理想的模式植物。与种子植物相比, 美洲水蕨具有多数蕨类植物的生物学特性(同型孢子、配子体与孢子体独立和叶两型), 繁殖快易成活, 被作为研究蕨类植物基因功能的模式植物(Marchant 2019; Kinoshita and Wolf, 2022; Marchant et al., 2022)。但水蕨的基因组偏大(Marchant et al., 2022), 不是基因功能研究最理想的模式植物。蕨类植物中基因组较小的满江红和槐叶蕨仅代表少数蕨类植物(Li et al., 2018b)。铁线蕨基因组约为4.8 G (Fang et al., 2022), 易繁殖, 生长周期短, 可能是未来蕨类基因功能研究的理想模式植物之一。蕨类植物的演化历经

3.6亿年, 现存物种超过12 000个种级单位, 单一的模式植物不能代表整个蕨类植物类群。对于繁殖快、株高等、易成活、适应性强和基因组偏小的物种可作为研究蕨类植物分子功能的普适模式植物, 如美洲水蕨、铁线蕨和香鳞毛蕨; 其它一些特殊蕨类植物, 如水生蕨类满江红、石松类伏地卷柏(*S. nipponica*)、富硒蕨类蜈蚣草同样可以作为模式植物。

目前, 蕨类植物基因功能研究仍局限于生物信息学分析、基因克隆和表达量测定等, 而通过遗传转化体系对基因功能进行深入研究占比不及50%, 其中相当一部分转基因还是异源验证。已成功开展转基因的蕨类植物主要有美洲水蕨和蜈蚣草(Stout et al., 2003; Kawai-Toyooka et al., 2004; Rutherford et al., 2004; Muthukumar et al., 2013; Plackett et al., 2014, 2015)。从技术应用上看, 当前的蕨类遗传转化技术仍存在较大局限性, 如外植体不易获取、外植体分化率低及转化效率低, 因此短时间难以获得转基因植株。外植体除播种孢子获取外, 美洲水蕨等的孢芽可否用作外植体值得尝试。对于外植体分化率低, 建议侵染前先创制高分化率的外植体材料(Debernardi et al., 2020; Chen et al., 2022; McFarland et al., 2023), 或者寻求适合蕨类愈伤组织分化的激素组合。从新方法新技术入手考虑解决基因转化效率低的难题(Anand et al., 2018), 以及开发简易、高效且普适的遗传转化技术是推动蕨类植物基因功能研究的关键。

## 7.2 蕨类植物是研究陆生植物生物学特性的关键类群

蕨类植物特有的形态特性和世代交替模式, 是研究植物器官起始、分化和形成、配子体性器官性别分化及无性生殖的模式材料。蕨类植物基因组普遍较大(Hidalgo et al., 2017; Wang et al., 2022), 其中有大量的重复序列(Fang et al., 2022; Marchant et al., 2022; Ruiz-Ruano et al., 2022), 这些以短重复序列存在的转座子对蕨类植物的适应性演化有何作用(Niu et al., 2019)? 作为最原始的维管植物, 决定形态结构和环境适应性的遗传物质在蕨类植物基因新功能性以及新基因的演化方面有哪些独特性? 蕨类植物对植物家族基因的起源和演化有哪些特殊贡献(Fang et al., 2022)? 卷柏和旱生蕨类植物如何适应

极度脱水环境(Alejo-Jacuin and Herrera-Estrella, 2022; Putzier et al., 2022)? 除了花本身的原因, 蕨类植物为何比被子植物更能规避害虫侵害(Hendrix, 1980)? 是否有特异的抗虫物质发挥功能(Shukla et al., 2016; Li et al., 2018b; Marchant et al., 2022)? 蕨类植物须根与内寄生固氮微生物的共生机制如何(Li et al., 2018b)? 有些蕨类的存活是否高度依赖原始生境的共生微生物? 这些问题值得关注。

蕨类植物中有很多独特的结构, 对于研究陆生植物的形态演化具有重要意义。鳞片和拳卷叶是蕨类植物独特的结构和发育特性(顾钰峰等, 2020), 我们对鳞片的起源和演化知之甚少。为什么所有蕨类植物都有拳卷叶? 拳卷叶伸展的分子机制是什么? 蕨类植物叶片结构多样性形成的分子基础是什么(Vasco and Ambrose, 2020)? 是否与种子植物中KNOX和ARP的共调控类似? 真蕨植物的不定根起源如何独立于石松类植物的二歧根系和种子植物的主根系(Liu and Xu, 2018)? 蕨类植物的叶脉从单一叶脉、二叉叶脉、羽状叶脉到网状叶脉, 提供了陆生植物叶脉起源的很好范本, 其演化机制是什么? 回答上述问题将有助于理解蕨类植物的演化历程。蕨类植物维管束的演化历程是从原生中柱、管状中柱、网状中柱到真中柱, 这是一个完整的演化模式。

## 7.3 蕨类植物的新应用场景

在应用基础研究领域, 蕨类植物是中药活性成分开发(马尾杉属、金毛狗(*Cibotium barometz*)、槲蕨属(*Drynaria*))、环境污染治理(蜈蚣草)、城市景观绿化(巢蕨属(*Asplenium*)、桫欏科(*Cyathea*))、鹿角蕨属(*Platyserium*))、生态修复(卤蕨属(*Acrostichum*))和发展林下经济(药用、食用和观赏蕨类)的重要植物资源。蕨类植物历经3亿年的演化, 我们对其在环境适应方面的分子机制知之甚少, 蕨类植物合成的具有生物活性的次生代谢物不胜枚举, 但人类对蕨类植物的认识和利用十分有限, 揭示其生物学特性的分子机制将为开发蕨类资源应用场景提供理论支撑。宽叶铁线蕨(*A. latifolium*)中的萜类化合物(22-hydroxyhopane)有抗病毒功效, 可作为治疗病毒感染的新型药物(Kumar and Siddique, 2022); 该物质还能杀死甲虫的幼虫, 可作为杀虫剂使用(Pradeep et al., 2019)。此外, 将一些有明确功能的蕨类植物基因克隆到其它植物中,

获得具有特殊用途的功能性植物, 在天然产物合成(Nett et al., 2021)、生物抗虫(Shukla et al., 2016; Yadav et al., 2019; Marchant et al., 2022; Fang et al., 2022)和环境治理(Ma et al., 2001)方面有极大的潜在应用价值。

## 作者贡献声明

王凤攀, 严岳鸿: 确定主题, 构思各章节内容, 整理文献, 撰写全文; 仲昭暄: 收集数据并构思作图; 舒江平, 陈利君: 审阅并完善内容。

## 参考文献

- 陈雪菲, 张映雪, 黄贤燕, 王全喜, 曹建国, 王幼芳 (2020). 蕨类植物花青素和原花青素成分及含量分析. 植物科学学报 **38**, 820–830.
- 顾钰峰, 金冬梅, 刘保东, 戴锡玲, 严岳鸿 (2020). 蕨类植物的鳞片特征及演化I: 凤尾蕨科. 植物学报 **55**, 163–176.
- 黄小芳 (2016). 基于转录组测序的红盖鳞毛蕨类黄酮3'-羟化酶(F3'H)基因的克隆与表达分析. 硕士论文. 上海: 上海师范大学. pp. 1–64.
- 李赛男, 王雯静, 张蓓蓓, 张泽坤, 葛祥宇, 杜宇, 张晓雪, 王娟, 史社坡 (2022). 蛇足石杉中赖氨酸脱羧酶基因的克隆、表达及功能鉴定. 药学报 **57**, 3437–3445.
- 刘爱佳, 陈晓英, 李翠, 闫志刚, 冯世鑫, 缪剑华, 雷明 (2022). 蛇足石杉HsCAO3基因的克隆及转录自激活能力检测. 分子植物育种 **20**, 809–816.
- 刘爱佳, 陈晓英, 李翠, 闫志刚, 冯世鑫, 张占江, 雷明, 缪剑华 (2021). 蛇足石杉HsCAO2基因的克隆、生物信息学分析及载体构建. 中草药 **52**, 7309–7316.
- 严岳鸿, 卫然, 舒江平, 张宪春 (2019). 通过现存蕨类植物多样性透视陆生植物的演化. 生物多样性 **27**, 1165–1171.
- Alber AV, Renault H, Basilio-Lopes A, Bassard JE, Liu ZH, Ullmann P, Lesot A, Bihel F, Schmitt M, Werck-Reichhart D (2019). Evolution of coumaroyl conjugate 3-hydroxylases in land plants: lignin biosynthesis and defense. *Plant J* **99**, 924–936.
- Alejo-Jacuinde G, Herrera-Estrella L (2022). Exploring the high variability of vegetative desiccation tolerance in pteridophytes. *Plants* **11**, 1222.
- Anand A, Bass SH, Wu E, Wang N, McBride KE, Annaluru N, Miller M, Hua M, Jones TJ (2018). An improved ternary vector system for *Agrobacterium*-mediated rapid maize transformation. *Plant Mol Biol* **97**, 187–200.
- Araki T, Saga Y, Marugami M, Otaka J, Araya H, Saito K, Yamazaki M, Suzuki H, Kushiro T (2016). Onocerin biosynthesis requires two highly dedicated triterpene cyclases in a fern *Lycopodium clavatum*. *ChemBioChem* **17**, 288–290.
- Atallah NM, Banks JA (2015). Reproduction and the pheromonal regulation of sex type in fern gametophytes. *Front Plant Sci* **6**, 100.
- Banks JA (1997). Sex determination in the fern *Ceratopteris*. *Trends Plant Sci* **2**, 175–180.
- Banks JA, Nishiyama T, Hasebe M, Bowman JL, Gribskov M, dePamphilis C, Albert VA, Aono N, Aoyama T, Ambrose BA, Ashton NW, Axtell MJ, Barker E, Barker MS, Bennetzen JL, Bonawitz ND, Chapple C, Cheng CY, Correa LGG, Dacre M, DeBarry J, Dreyer I, Elias M, Engstrom EM, Estelle M, Feng L, Finet C, Floyd SK, Frommer WB, Fujita T, Gramzow L, Gutensohn M, Harholt J, Hattori M, Heyl A, Hirai T, Hiwatashi Y, Ishikawa M, Iwata M, Karol KG, Koehler B, Kolukisaoglu U, Kubo M, Kurata T, Lalonde S, Li KJ, Li Y, Litt A, Lyons E, Manning G, Maruyama T, Michael TP, Mikami K, Miyazaki S, Morinaga SI, Murata T, Mueller-Roeber B, Nelson DR, Obara M, Oguri Y, Olmstead RG, Onodera N, Petersen BL, Pils B, Prigge M, Rensing SA, Riaño-Pachón DM, Roberts AW, Sato Y, Scheller HV, Schulz B, Schulz C, Shakirov EV, Shibagaki N, Shinohara N, Shippen DE, Sørensen I, Sotooka R, Sugimoto N, Sugita M, Sumikawa N, Tanurdzic M, Theissen G, Ulvskov P, Wakazuki S, Weng JK, Willats WWGT, Wipf D, Wolf PG, Yang LX, Zimmer AD, Zhu QH, Mitros T, Hellsten U, Loqué D, Otiillar R, Salamov A, Schmutz J, Shapiro H, Lindquist E, Lucas S, Rokhsar D, Grigoriev IV (2011). The *Selaginella* genome identifies genetic changes associated with the evolution of vascular plants. *Science* **332**, 960–963.
- Berrueto F, de Souza FSJ, Picca PI, Nemirovsky SI, Martínez Tosar L, Rivero M, Mentaberry AN, Zelada AM (2017). Sequencing of small RNAs of the fern *Pleopeltis minima* (Polypodiaceae) offers insight into the evolution of the microRNA repertoire in land plants. *PLoS One* **12**, e0177573.
- Bharathan G, Goliber TE, Moore C, Kessler S, Pham T, Sinha NR (2002). Homologies in leaf form inferred from *KNOX1* gene expression during development. *Science* **296**, 1858–1860.
- Bui LT, Pandzic D, Youngstrom CE, Wallace S, Irish EE, Szövényi P, Cheng CL (2017). A fern *AINTEGUMENTA* gene mirrors *BABY BOOM* in promoting apogamy in *Cera-*

- topteris richardii*. *Plant J* **90**, 122–132.
- Bunsupa S, Hanada K, Maruyama A, Aoyagi K, Komatsu K, Ueno H, Yamashita M, Sasaki R, Oikawa A, Saito K, Yamazaki M** (2016). Molecular evolution and functional characterization of a bifunctional decarboxylase involved in lycopodium alkaloid biosynthesis. *Plant Physiol* **171**, 2432–2444.
- Cai C, Lanman NA, Withers KA, DeLeon AM, Wu Q, Gribskov M, Salt DE, Banks JA** (2019). Three genes define a bacterial-like arsenic tolerance mechanism in the arsenic hyperaccumulating fern *Pteris vittata*. *Curr Biol* **29**, 1625–1633.
- Cai SG, Chen G, Wang YY, Huang YQ, Marchant DB, Wang YZ, Yang Q, Dai F, Hills A, Franks PJ, Nevo E, Soltis DE, Soltis PS, Sessa E, Wolf PG, Xue DW, Zhang GP, Pogson BJ, Blatt MR, Chen ZH** (2017). Evolutionary conservation of ABA signaling for stomatal closure. *Plant Physiol* **174**, 732–747.
- Cai SG, Huang YQ, Chen F, Zhang X, Sessa E, Zhao CC, Marchant DB, Xue DW, Chen G, Dai F, Leebens-Mack JH, Zhang GP, Shabala S, Christie JM, Blatt MR, Nevo E, Soltis PS, Soltis DE, Franks PJ, Wu FB, Chen ZH** (2021). Evolution of rapid blue-light response linked to explosive diversification of ferns in angiosperm forests. *New Phytol* **230**, 1201–1213.
- Cai ZP, Xie ZY, Wang XC, Zhang SX, Wu Q, Yu XD, Guo Y, Gao SY, Zhang YG, Xu ST, Wang HG, Luo JJ** (2022). Excavation of genes responsive to brassinosteroids by transcriptome sequencing in *Adiantum flabellulatum* gametophytes. *Genes* **13**, 1061.
- Cardoso AA, Randall JM, McAdam SA** (2019). Hydraulics regulate stomatal responses to changes in leaf water status in the fern *Athyrium filix-femina*. *Plant Physiol* **179**, 533–543.
- Chen JJ, Tomes S, Gleave AP, Hall W, Luo ZW, Xu J, Yao JL** (2022). Significant improvement of apple (*Malus domestica* Borkh.) transgenic plant production by pre-transformation with a Baby boom transcription factor. *Hortic Res* **9**, uhab014.
- Chen JX, Cao Y, Yan XJ, Chen YS, Ma LQ** (2021). Novel *PvACR3;2* and *PvACR3;3* genes from arsenic-hyperaccumulator *Pteris vittata* and their roles in manipulating plant arsenic accumulation. *J Hazard Mater* **415**, 125647.
- Chen YS, Xu WZ, Shen HL, Yan HL, Xu WX, He ZY, Ma M** (2013). Engineering arsenic tolerance and hyperaccumulation in plants for phytoremediation by a *PvACR3* transgenic approach. *Environ Sci Technol* **47**, 9355–9362.
- Cordle AR, Irish EE, Cheng CL** (2007). Apogamy induction in *Ceratopteris richardii*. *Int J Plant Sci* **168**, 361–369.
- Costarelli A, Cannavò S, Cerri M, Pellegrino RM, Reale L, Paolocci F, Pasqualini S** (2021). Light and temperature shape the phenylpropanoid profile of *Azolla filiculoides* fronds. *Front Plant Sci* **12**, 727667.
- Cruz R, Melo-de-Pinna GFA, Vasco A, Prado J, Ambrose BA** (2020). Class I *KNOX* is related to determinacy during the leaf development of the fern *Mickelia scandens* (Dryopteridaceae). *Int J Mol Sci* **21**, 4295.
- Cui JT, Zhu YK, Du H, Liu ZH, Shen SQ, Wang TX, Cui WW, Zhang R, Jiang SJ, Wu YM, Gu XF, Yu H, Liang Z** (2023). Chromosome-level reference genome of tetraploid *Isoetes sinensis* provides insights into evolution and adaption of lycophytes. *GigaScience* **12**, giad079.
- de Vries J, Fischer AM, Roettger M, Rommel S, Schluempmann H, Bräutigam A, Carlsbecker A, Gould SB** (2016). Cytokinin-induced promotion of root meristem size in the fern *Azolla* supports a shoot-like origin of euphyllophyte roots. *New Phytol* **209**, 705–720.
- de Vries S, de Vries J, Teschke H, von Dahlen JK, Rose LE, Gould SB** (2018). Jasmonic and salicylic acid response in the fern *Azolla filiculoides* and its cyanobiont. *Plant Cell Environ* **41**, 2530–2548.
- Debernardi JM, Tricoli DM, Ercoli MF, Hayta S, Ronald P, Palatnik JF, Dubcovsky J** (2020). A GRF-GIF chimeric protein improves the regeneration efficiency of transgenic plants. *Nat Biotechnol* **38**, 1274–1279.
- DiTusa SF, Fontenot EB, Wallace RW, Silvers MA, Steele TN, Elnagar AH, Dearman KM, Smith AP** (2016). A member of the phosphate transporter 1 (Pht1) family from the arsenic-hyperaccumulating fern *Pteris vittata* is a high-affinity arsenate transporter. *New Phytol* **209**, 762–772.
- Fang YH, Qin X, Liao QG, Du R, Luo XZ, Zhou Q, Li Z, Chen HC, Jin WT, Yuan YN, Sun PB, Zhang R, Zhang J, Wang L, Cheng SF, Yang XY, Yan YH, Zhang XT, Zhang ZH, Bai SN, Van de Peer Y, Lucas WJ, Huang SW, Yan JB** (2022). The genome of homosporous maidenhair fern sheds light on the euphyllophyte evolution and defences. *Nat Plants* **8**, 1024–1037.
- Feng HY, Li XY, Sun D, Chen YS, Xu GH, Cao Y, Ma LQ** (2021). Expressing phosphate transporter *PvPht2;1* enhances P transport to the chloroplasts and increases arsenic tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Environ Sci Te*



- chnol* **55**, 2276–2284.
- Frangedakis E, Saint-Marcoux D, Moody LA, Rabbino-witsch E, Langdale JA** (2017). Nonreciprocal complementation of KNOX gene function in land plants. *New Phytol* **216**, 591–604.
- Gao R, Yu D, Chen LL, Wang WZ, Sun LL, Chang Y** (2019). Cloning and functional analysis of squalene synthase gene from *Dryopteris fragrans* (L.) Schott. *Protein Expres Purif* **155**, 95–103.
- Ge YC, Liu J, Zeng MH, He JF, Qin P, Huang H, Xu L** (2016). Identification of WOX family genes in *Selaginella kraussiana* for studies on stem cells and regeneration in lycophytes. *Front Plant Sci* **7**, 93.
- Geng Y, Guo L, Han H, Liu X, Banks JA, Wisecaver JH, Zhou Y** (2021). Conservation and diversification of HAIRY MERISTEM gene family in land plants. *Plant J* **106**, 366–378.
- Geng Y, Yan A, Zhou Y** (2022). Positional cues and cell division dynamics drive meristem development and archegonium formation in *Ceratopteris gametophytes*. *Commun Biol* **5**, 650.
- Güngör E, Brouwer P, Dijkhuizen LW, Shaffar DC, Nierop KGJ, de Vos RCH, Sastre Toraño J, van Der Meer IM, Schluepmann H** (2021). *Azolla* ferns testify: seed plants and ferns share a common ancestor for leucoanthocyanidin reductase enzymes. *New Phytol* **229**, 1118–1132.
- Harrison CJ, Corley SB, Moylan EC, Alexander DL, Scotland RW, Langdale JA** (2005). Independent recruitment of a conserved developmental mechanism during leaf evolution. *Nature* **434**, 509–514.
- He ZY, Yan HL, Chen YS, Shen HL, Xu WX, Zhang HY, Shi L, Zhu YG, Ma M** (2016). An aquaporin PvTIP4;1 from *Pteris vittata* may mediate arsenite uptake. *New Phytol* **209**, 746–761.
- Hendrix SD** (1980). An evolutionary and ecological perspective of the insect fauna of ferns. *Am Nat* **115**, 171–196.
- Hidalgo O, Pellicer J, Christenhusz M, Schneider H, Leitch AR, Leitch IJ** (2017). Is there an upper limit to genome size? *Trends Plant Sci* **22**, 567–573.
- Hong YF, Wang Z, Li MH, Su YJ, Wang T** (2022). First multi-organ full-length transcriptome of tree fern *Alsophila spinulosa* highlights the stress-resistant and light-adapted genes. *Front Genet* **12**, 784546.
- Huang X, Wang WL, Gong T, Wickell D, Kuo LY, Zhang XT, Wen JL, Kim H, Lu FC, Zhao HS, Chen S, Li H, Wu WQ, Yu CJ, Chen S, Fan W, Chen S, Bao XQ, Li L, Zhang D, Jiang LY, Khadka D, Yan XJ, Liao ZY, Zhou GK, Guo YL, Ralph J, Sederoff RR, Wei HR, Zhu P, Li FW, Ming R, Li QZ** (2022). The flying spider-monkey tree fern genome provides insights into fern evolution and arborescence. *Nat Plants* **8**, 500–512.
- Imaizumi T, Kanegae T, Wada M** (2000). Cryptochrome nucleocytoplasmic distribution and gene expression are regulated by light quality in the fern *Adiantum capillus-veneris*. *Plant Cell* **12**, 81–95.
- Indriolo E, Na G, Ellis D, Salt DE, Banks JA** (2010). A vacuolar arsenite transporter necessary for arsenic tolerance in the arsenic hyperaccumulating fern *Pteris vittata* is missing in flowering plants. *Plant Cell* **22**, 2045–2057.
- Jiménez A, Quintanilla LG, Pajarón S, Pangua E** (2008). Reproductive and competitive interactions among gametophytes of the allotetraploid fern *Dryopteris corleyi* and its two diploid parents. *Ann Bot* **102**, 353–359.
- Kawai H, Kanegae T, Christensen S, Kiyosue T, Sato Y, Imaizumi T, Kadota A, Wada M** (2003). Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature* **421**, 287–290.
- Kawai-Toyooka H, Kuramoto C, Orui K, Motoyama K, Kikuchi K, Kanegae T, Wada M** (2004). DNA interference: a simple and efficient gene-silencing system for high-throughput functional analysis in the fern *Adiantum*. *Plant Cell Physiol* **45**, 1648–1657.
- Kinosian SP, Wolf PG** (2022). The biology of *C. richardii* as a tool to understand plant evolution. *eLife* **11**, e75019.
- Kumar RP, Siddique S** (2022). 22-Hydroxyhopane, a novel multitargeted phytocompound against SARS-CoV-2 from *Adiantum latifolium* Lam. *Nat Prod Res* **36**, 4276–4281.
- Lane TS, Rempe CS, Davitt J, Staton ME, Peng YH, Soltis DE, Melkonian M, Deyholos M, Leebens-Mack JH, Chase M, Rothfels CJ, Stevenson D, Graham SW, Yu J, Liu T, Pires JC, Edger PP, Zhang Y, Xie YL, Zhu Y, Carpenter E, Wong GKS, Stewart CN Jr** (2016). Diversity of ABC transporter genes across the plant kingdom and their potential utility in biotechnology. *BMC Biotechnol* **16**, 47.
- Li C, Huang WJ, Han XX, Zhao GH, Zhang WY, He WJ, Nie B, Chen XF, Zhang TJ, Bai WH, Zhang XP, He JJ, Zhao C, Fernie AR, Tschaplinski TJ, Yang XH, Yan SJ, Wang L** (2023). Diel dynamics of multi-omics in elkhorn fern provide new insights into weak CAM photosynthesis. *Plant Commun* **4**, 100594.

- Li FW, Brouwer P, Carretero-Paulet L, Cheng SF, De Vries J, Delaux PM, Eily A, Koppers N, Kuo LY, Li Z, Simenc M, Small I, Wafula E, Angarita S, Barker MS, Bräutigam A, DePamphilis C, Gould S, Hosmani PS, Huang YM, Huettel B, Kato Y, Liu X, Maere S, McDowell R, Mueller LA, Nierop KGJ, Rensing SA, Robison T, Rothfels CJ, Sigel EM, Song Y, Timilsena PR, Van de Peer Y, Wang HL, Wilhelmsson PKI, Wolf PG, Xu X, Der JP, Schluepmann H, Wong GKS, Pryer KM (2018a). Fern genomes elucidate land plant evolution and cyanobacterial symbioses. *Nat Plants* **4**, 460–472.
- Li QC, Wang HB, Wang HJ, Li Y, Wang ZZ, Zhang XM (2018b). Effect of arsenate on endogenous levels of cytokinins with different existing forms in two *Pteris* species. *Plant Physiol Biochem* **132**, 652–659.
- Li SS, Li Y, Sun LL, Hu BZ, Chang Y (2015). Identification and expression analysis of 4-coumarate: coenzyme a ligase gene family in *Dryopteris fragrans*. *Cell Mol Biol* **61**, 25–33.
- Li XY, Sun D, Feng HY, Chen JX, Chen YS, Li HB, Cao Y, Ma LQ (2020). Efficient arsenate reduction in As-hyperaccumulator *Pteris vittata* are mediated by novel arsenate reductases PvHAC1 and PvHAC2. *J Hazard Mater* **399**, 122895.
- Liu W, Xu L (2018). Recruitment of *IC-WOX* genes in root evolution. *Trends Plant Sci* **23**, 490–496.
- Ma LQ, Komar KM, Tu C, Zhang WH, Cai Y, Kennelley ED (2001). A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature* **409**, 579.
- Marchant DB (2019). Ferns with benefits: incorporating *Ceratopteris* into the genomics era. *Am Fern J* **109**, 183–191.
- Marchant DB, Chen G, Cai SG, Chen F, Schafran P, Jenkins J, Shu SQ, Plott C, Webber J, Lovell JT, He GF, Sandor L, Williams M, Rajasekar S, Healey A, Barry K, Zhang YW, Sessa E, Dhakal RR, Wolf PG, Harkess A, Li FW, Rössner C, Becker A, Gramzow L, Xue DW, Wu YH, Tong T, Wang YY, Dai F, Hua SJ, Wang H, Xu SC, Xu F, Duan HL, Theißen G, McKain MR, Li Z, McKibben MTW, Barker MS, Schmitz RJ, Stevenson DW, Zumaño-Cardona C, Ambrose BA, Leebens-Mack JH, Grimwood J, Schmutz J, Soltis PS, Soltis DE, Chen ZH (2022). Dynamic genome evolution in a model fern. *Nat Plants* **8**, 1038–1051.
- Marks RA, Hotaling S, Frandsen PB, VanBuren R (2021). Representation and participation across 20 years of plant genome sequencing. *Nat Plants* **7**, 1571–1578.
- Mathews S, Ma LQ, Rathinasabapathi B, Natarajan S, Saha UK (2010). Arsenic transformation in the growth media and biomass of hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Bioresour Technol* **101**, 8024–8030.
- McAdam SAM, Brodribb TJ (2012). Fern and lycophyte guard cells do not respond to endogenous abscisic acid. *Plant Cell* **24**, 1510–1521.
- McAdam SAM, Brodribb TJ (2013). Ancestral stomatal control results in a canalization of fern and lycophyte adaptation to drought. *New Phytol* **198**, 429–441.
- McAdam SAM, Brodribb TJ, Banks JA, Hedrich R, Atallah NM, Cai C, Geringer MA, Lind C, Nichols DS, Stachowski K, Geiger D, Susmilch FC (2016). Abscisic acid controlled sex before transpiration in vascular plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**, 12862–12867.
- McFarland FL, Collier R, Walter N, Martinell B, Kaeppler SM, Kaeppler HF (2023). A key to totipotency: *Wuschel-like homeobox 2a* unlocks embryogenic culture response in maize (*Zea mays* L.). *Plant Biotechnol J* **21**, 1860–1872.
- Muthukumar B, Joyce BL, Elless MP, Stewart CN Jr (2013). Stable transformation of ferns using spores as targets: *Pteris vittata* and *Ceratopteris thalictroides*. *Plant Physiol* **163**, 648–658.
- Nett RS, Dho Y, Low YY, Sattely ES (2021). A metabolic regulon reveals early and late acting enzymes in neuroactive lycopodium alkaloid biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **118**, e2102949118.
- Niu M, Fu J, Ni R, Xiong RL, Zhu TT, Lou HX, Zhang P, Li JX, Cheng AX (2021). Functional and structural investigation of chalcone synthases based on integrated metabolomics and transcriptome analysis on flavonoids and anthocyanins biosynthesis of the fern *Cyclosorus parasiticus*. *Front Plant Sci* **12**, 757516.
- Niu XM, Xu YC, Li ZW, Bian YT, Hou XH, Chen JF, Zou YP, Jiang J, Wu Q, Ge S, Balasubramanian S, Guo YL (2019). Transposable elements drive rapid phenotypic variation in *Capsella rubella*. *Proc Natl Acad Sci USA* **116**, 6908–6913.
- Ostria-Gallardo E, Larama G, Berrios G, Fallard A, Gutiérrez-Moraga A, Ensminger I, Bravo LA (2020). A comparative gene co-expression analysis using self-organizing maps on two congener filmy ferns identifies specific desiccation tolerance mechanisms associated to their microhabitat preference. *BMC Plant Biol* **20**, 56.

- Plackett ARG, Emms DM, Kelly S, Hetherington AM, Langdale JA** (2021). Conditional stomatal closure in a fern shares molecular features with flowering plant active stomatal responses. *Curr Biol* **31**, 4560–4570.
- Plackett ARG, Huang LD, Sanders HL, Langdale JA** (2014). High-efficiency stable transformation of the model fern species *Ceratopteris richardii* via microparticle bombardment. *Plant Physiol* **165**, 3–14.
- Plackett ARG, Rabbinowitsch EH, Langdale JA** (2015). Protocol: genetic transformation of the fern *Ceratopteris richardii* through microparticle bombardment. *Plant Methods* **11**, 37.
- Popov M, Zemanová V, Sácký J, Pavlík M, Leonhardt T, Matoušek T, Kaňa A, Pavlíková D, Kotrba P** (2021). Arsenic accumulation and speciation in two cultivars of *Pteris cretica* L. and characterization of arsenate reductase *PcACR2* and arsenite transporter *PcACR3* genes in the hyperaccumulating cv. Albo-lineata. *Ecotoxicol Environ Saf* **216**, 112196.
- Pradeep Kumar R, Dinesh Babu KV, Evans DA** (2019). Isolation, characterization and mode of action of a larvicidal compound, 22-hydroxyhopane from *Adiantum latifolium* Lam. against *Oryctes rhinoceros* Linn. *Pestic Biochem Physiol* **153**, 161–170.
- Prats KA, Brodersen CR** (2021). Desiccation and rehydration dynamics in the epiphytic resurrection fern *Pleopeltis polypodioides*. *Plant Physiol* **187**, 1501–1518.
- Putzier CC, Polich SB, Verhoeven AS** (2022). Sustained zeaxanthin-dependent thermal dissipation is induced by desiccation and low temperatures in the fern *Polypodium virginianum*. *Physiol Plant* **174**, e13743.
- Rodríguez-Pelayo C, Ambrose BA, Vasco A, Alzate JF, Pabón-Mora N** (2022). Evolution and expression of *LEAFY* genes in ferns and lycophytes. *EvoDevo* **13**, 2.
- Ruiz-Ruano FJ, Navarro-Domínguez B, Camacho JPM, Garrido-Ramos MA** (2022). Transposable element landscapes illuminate past evolutionary events in the endangered fern *Vandenboschia speciosa*. *Genome* **65**, 95–103.
- Rutherford G, Tanurdzic M, Hasebe M, Banks JA** (2004). A systemic gene silencing method suitable for high throughput, reverse genetic analyses of gene function in fern gametophytes. *BMC Plant Biol* **4**, 6.
- Sánchez-Bermejo E, Castrillo G, Del Llano B, Navarro C, Zarco-Fernández S, Martínez-Herrera DJ, Leo-del Puerto Y, Muñoz R, Cámara C, Paz-Ares J, Alonso-Blanco C, Leyva A** (2014). Natural variation in arsenate tolerance identifies an arsenate reductase in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Commun* **5**, 4617.
- Sano R, Juárez CM, Hass B, Sakakibara K, Ito M, Banks JA, Hasebe M** (2005). KNOX homeobox genes potentially have similar function in both diploid unicellular and multicellular meristems, but not in haploid meristems. *Evol Dev* **7**, 69–78.
- Shukla AK, Upadhyay SK, Mishra M, Saurabh S, Singh R, Singh H, Thakur N, Rai P, Pandey P, Hans AL, Srivastava S, Rajapure V, Yadav SK, Singh MK, Kumar J, Chandrashekar K, Verma PC, Singh AP, Nair KN, Bhadauria S, Wahajuddin M, Singh S, Sharma S, Omkar, Upadhyay RS, Ranade SA, Tuli R, Singh PK** (2016). Expression of an insecticidal fern protein in cotton protects against whitefly. *Nat Biotechnol* **34**, 1046–1051.
- Siengalewicz P, Mulzer J, Rinner U** (2013). *Lycopodium* alkaloids-synthetic highlights and recent developments. *Alkaloids Chem Biol* **72**, 1–151.
- Siriwardana NS, Lamb RS** (2012). The poetry of reproduction: the role of *LEAFY* in *Arabidopsis thaliana* flower formation. *Int J Dev Biol* **56**, 207–221.
- Song CH, Guan YL, Zhang DR, Tang X, Chang Y** (2022). Integrated mRNA and miRNA transcriptome analysis suggests a regulatory network for UV-B-controlled terpenoid synthesis in fragrant woodfern (*Dryopteris fragrans*). *Int J Mol Sci* **23**, 5708.
- Sripinyowanich S, Kil EJ, Petchsri S, Jo Y, Choi H, Cho WK, Lee S** (2021). *De novo* transcriptome assembly of two *Microsorium* fern species identifies enzymes required for two upstream pathways of phytoecdysteroids. *Int J Mol Sci* **22**, 2085.
- Stout SC, Clark GB, Archer-Evans S, Roux SJ** (2003). Rapid and efficient suppression of gene expression in a single-cell model system, *Ceratopteris richardii*. *Plant Physiol* **131**, 1165–1168.
- Strain E, Hass B, Banks JA** (2001). Characterization of mutations that feminize gametophytes of the fern *Ceratopteris*. *Genetics* **159**, 1271–1281.
- Sun J, Li GS** (2020). Leaf dorsoventrality candidate gene *CpARF4* has conserved expression pattern but divergent tasiR-ARF regulation in the water fern *Ceratopteris pteridoides*. *Am J Bot* **107**, 1470–1480.
- Sun JY, Morita H, Chen GS, Noguchi H, Abe I** (2012). Molecular cloning and characterization of copper amine oxidase from *Huperzia serrata*. *Bioorg Med Chem Lett* **22**, 5784–5790.
- Sun LL, Li Y, Li SS, Wu XJ, Hu BZ, Chang Y** (2014).

- Identification and characterisation of *DfCHS*, a chalcone synthase gene regulated by temperature and ultraviolet in *Dryopteris fragrans*. *Cell Mol Biol* **60**, 1–7.
- Sun YQ, Shang LG, Zhu QH, Fan LJ, Guo LB** (2022). Twenty years of plant genome sequencing: achievements and challenges. *Trends Plant Sci* **27**, 391–401.
- Sundaram S, Wu S, Ma LQ, Rathinasabapathi B** (2009). Expression of a *Pteris vittata* glutaredoxin PvGRX5 in transgenic *Arabidopsis thaliana* increases plant arsenic tolerance and decreases arsenic accumulation in the leaves. *Plant Cell Environ* **32**, 851–858.
- Sztein AE, Cohen JD, Slovin JP, Cooke TJ** (1995). Auxin metabolism in representative land plants. *Am J Bot* **82**, 1514–1521.
- Tanaka J, Yano K, Aya K, Hirano K, Takehara S, Koketsu E, Ordonio RL, Park SH, Nakajima M, Ueguchi-Tanaka M, Matsuoka M** (2014). Antheridiogen determines sex in ferns via a spatiotemporally split gibberellin synthesis pathway. *Science* **346**, 469–473.
- Tomei EJ, Wolniak SM** (2016). Kinesin-2 and kinesin-9 have a typical functions during ciliogenesis in the male gametophyte of *Marsilea vestita*. *BMC Cell Biol* **17**, 29.
- VanBuren R, Wai CM, Ou SJ, Pardo J, Bryant D, Jiang N, Mockler TC, Edger P, Michael TP** (2018). Extreme haplotype variation in the desiccation-tolerant clubmoss *Selaginella lepidophylla*. *Nat Commun* **9**, 13.
- Vasco A, Ambrose BA** (2020). Simple and divided leaves in ferns: exploring the genetic basis for leaf morphology differences in the genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). *Int J Mol Sci* **21**, 5180.
- Vasco A, Smalls TL, Graham SW, Cooper ED, Wong GKS, Stevenson DW, Moran RC, Ambrose BA** (2016). Challenging the paradigms of leaf evolution: class III HD-Zips in ferns and lycophytes. *New Phytol* **212**, 745–758.
- Wang FG, Wang AH, Bai CK, Jin DM, Nie LY, Harris AJ, Che L, Wang JJ, Li SY, Xu L, Shen H, Gu YF, Shang H, Duan L, Zhang XC, Chen HF, Yan YH** (2022). Genome size evolution of the extant lycophytes and ferns. *Plant Divers* **44**, 141–152.
- Wang J, Ding N, Wu Y, Shi XP, Qi BW, Liu X, Wang XH, Li J, Tu PF, Shi SP** (2020). Enzymatic synthesis of 2-hydroxy-4H-quinolizin-4-one scaffolds by integrating coenzyme A ligases and a type III PKS from *Huperzia serrata*. *RSC Adv* **10**, 23566–23572.
- Wang J, Wang XH, Liu X, Li J, Shi XP, Song YL, Zeng KW, Zhang L, Tu PF, Shi SP** (2016). Synthesis of unnatural 2-substituted quinolones and 1,3-diketones by a member of type III polyketide synthases from *Huperzia serrata*. *Org Lett* **18**, 3550–3553.
- Weng JK, Akiyama T, Bonawitz ND, Li X, Ralph J, Chapple C** (2010a). Convergent evolution of syringyl lignin biosynthesis via distinct pathways in the lycophyte *Selaginella* and flowering plants. *Plant Cell* **22**, 1033–1045.
- Weng JK, Akiyama T, Ralph J, Chapple C** (2011). Independent recruitment of an O-methyltransferase for syringyl lignin biosynthesis in *Selaginella moellendorffii*. *Plant Cell* **23**, 2708–2724.
- Weng JK, Li X, Stout J, Chapple C** (2008). Independent origins of syringyl lignin in vascular plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 7887–7892.
- Weng JK, Mo HP, Chapple C** (2010b). Over-expression of F5H in COMT-deficient *Arabidopsis* leads to enrichment of an unusual lignin and disruption of pollen wall formation. *Plant J* **64**, 898–911.
- Wickell D, Kuo LY, Yang HP, Dhabalia Ashok A, Irisarri I, Dadras A, de Vries S, de Vries J, Huang YM, Li Z, Barker MS, Hartwick NT, Michael TP, Li FW** (2021). Underwater CAM photosynthesis elucidated by *Isoetes* genome. *Nat Commun* **12**, 6348.
- Wilson CL** (1953). The telome theory. *Bot Rev* **19**, 417–437.
- Wyder S, Rivera A, Valdés AE, Cañal MJ, Gagliardini V, Fernández H, Grossniklaus U** (2020). Differential gene expression profiling of one- and two-dimensional apogamous gametophytes of the fern *Dryopteris affinis* ssp. *affinis*. *Plant Physiol Biochem* **148**, 302–311.
- Xu BF, Lei L, Zhu XC, Zhou YQ, Xiao YL** (2017). Identification and characterization of L-lysine decarboxylase from *Huperzia serrata* and its role in the metabolic pathway of lycopodium alkaloid. *Phytochemistry* **136**, 23–30.
- Xu XY, McGrath SP, Zhao FJ** (2007). Rapid reduction of arsenate in the medium mediated by plant roots. *New Phytol* **176**, 590–599.
- Xu ZC, Xin TY, Bartels D, Li Y, Gu W, Yao H, Liu S, Yu HY, Pu XD, Zhou JG, Xu J, Xi CC, Lei HT, Song JY, Chen SL** (2018). Genome analysis of the ancient tracheophyte *Selaginella tamariscina* reveals evolutionary features relevant to the acquisition of desiccation tolerance. *Mol Plant* **11**, 983–994.
- Yadav SK, Archana, Singh R, Singh PK, Vasudev PG** (2019). Insecticidal fern protein Tma12 is possibly a lytic polysaccharide monooxygenase. *Planta* **249**, 1987–1996.
- Yan HL, Gao YW, Wu LL, Wang LY, Zhang T, Dai CH, Xu**

- WX, Feng L, Ma M, Zhu YG, He ZY** (2019). Potential use of the *Pteris vittata* arsenic hyperaccumulation-regulation network for phytoremediation. *J Hazard Mater* **368**, 386–396.
- Yang MQ, You WJ, Wu SW, Fan Z, Xu BF, Zhu ML, Li X, Xiao YL** (2017). Global transcriptome analysis of *Huperzia serrata* and identification of critical genes involved in the biosynthesis of huperzine A. *BMC Genomics* **18**, 245.
- Yobi A, Wone BWM, Xu WX, Alexander DC, Guo LN, Ryals JA, Oliver MJ, Cushman JC** (2013). Metabolomic profiling in *Selaginella lepidophylla* at various hydration states provides new insights into the mechanistic basis of desiccation tolerance. *Mol Plant* **6**, 369–385.
- Yokota T, Ohnishi T, Shibata K, Asahina M, Nomura T, Fujita T, Ishizaki K, Kohchi T** (2017). Occurrence of brassinosteroids in non-flowering land plants, liverwort, moss, lycophyte and fern. *Phytochemistry* **136**, 46–55.
- Youngstrom CE, Geadelmann LF, Irish EE, Cheng CL** (2019). A fern *WUSCHEL*-RELATED *HOMEODOMAIN* gene functions in both gametophyte and sporophyte generations. *BMC Plant Biol* **19**, 416.
- Youngstrom CE, Withers KA, Irish EE, Cheng CL** (2022). Vascular function of the T3/modern clade *WUSCHEL*-Related *HOMEODOMAIN* transcription factor genes predate apical meristem-maintenance function. *BMC Plant Biol* **22**, 210.
- Yu J, Zhang YY, Liu W, Wang H, Wen ST, Zhang YJ, Xu L** (2020). Molecular evolution of auxin-mediated root initiation in plants. *Mol Biol Evol* **37**, 1387–1393.
- Yu JG, Tang JY, Wei R, Lan MF, Xiang RC, Zhang XC, Xiang QP** (2023). The first homosporous lycophyte genome revealed the association between the recent dynamic accumulation of LTR-RTs and genome size variation. *Plant Mol Biol* **112**, 325–340.
- Yu Y, Jia TR, Chen XM** (2017). The ‘how’ and ‘where’ of plant microRNAs. *New Phytol* **216**, 1002–1017.
- Zhang J, Liu JY, Zheng FB, Yu M, Shabala S, Song WY** (2022). Comparative analysis of arsenic transport and tolerance mechanisms: evolution from prokaryote to higher plants. *Cells* **11**, 2741.
- Zhang XS, Ni R, Wang PY, Zhu TT, Sun CJ, Lou HX, Cheng AX** (2019). Isolation and functional characterization of two Caffeoyl Coenzyme A 3-O-methyltransferases from the fern species *Polypodiodes amoena*. *Plant Physiol Biochem* **136**, 169–177.
- Zhong Y, Liu YB, Wu W, Chen JF, Sun CY, Liu HM, Shu JP, Ebihara A, Yan YH, Zhou RC, Schneider H** (2022). Genomic insights into genetic diploidization in the homosporous fern *Adiantum nelumboides*. *Genome Biol Evol* **14**, evac127.
- Zhou Y, Gao L, Wang B, Wang T** (2013). Molecular cloning and characterization of three cryptochrome genes from the fern *Asplenium yunnanense*. *Plant Physiol Biochem* **67**, 71–76.
- Zumajo-Cardona C, Vasco A, Ambrose BA** (2019). The evolution of the *KANADI* gene family and leaf development in lycophytes and ferns. *Plants* **8**, 313.

# A Comprehensive Overview of the Studies on the Gene Function in Pteridophytes

Fengpan Wang<sup>1</sup>, Zhaoxuan Zhong<sup>1,2</sup>, Lijun Chen<sup>1</sup>, Jiangping Shu<sup>1</sup>, Yuehong Yan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Orchid Conservation and Utilization, The Orchid Conservation and Research Center of Shenzhen, Shenzhen 518114, China; <sup>2</sup>College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

**Abstract** Pteridophytes (lycophytes and ferns) are the second most diverse lineage of vascular plants on the earth. These plants share several morphological and physiological traits with other vascular and sporophyte plants, and play a vital role in the evolutionary progression of land plants from simple to complex forms. Pteridophytes exhibit many unique biological processes different from other plant groups, and play a key role in the study of plant genome evolution, organ development, reproductive phenomena, and adaptation to changing environment. The advancement and implementation of modern sequencing technology has greatly accelerated the sequencing and assembly of plant genomes, and greatly promoted the exploration gene function of pteridophytes. To gain an enhanced comprehension of the present interesting fields and noteworthy development in functional genomics research of pteridophytes, this article provides a thorough overview of the functional investigation of pteridophyte genes from various perspectives. It mainly focuses on the development of organs, reproductive processes, adaptability to the environment, and the synthesis of secondary metabolites. It presents a systematic exploration of the functions of multiple genes, highlighting the practical implementation of gene function research in clarifying the unique biological processes specific to pteridophytes. In addition, this article puts forward several recommendations on how to expedite the research on gene function of pteridophytes, and to take advantage of function studies in exploring the biological characteristics of terrestrial plants and expanding the application scope of pteridophytes.

**Key words** ferns, lycophytes, gene, function study, biological traits

**Wang FP, Zhong ZX, Chen LJ, Shu JP, Yan YH** (2024). A comprehensive overview of the studies on the gene function in pteridophytes. *Chin Bull Bot* **59**, 495–514.

\* Author for correspondence. E-mail: yhyan@sibs.ac.cn

(责任编辑: 白羽红)

## 附表1 广义蕨类植物基因功能研究概况

### Appendix Table 1 Overview of gene function researches in pteridophytes

<https://www.chinbullbotany.com/fileup/1674-3466/PDF/23-090-1.pdf>

## 通讯作者/团队简介

**严岳鸿**, 深圳市兰科植物保护研究中心研究员, 研究总监。长期从事蕨类植物资源调查、系统分类与进化等基础研究。研究团队基于转录组测序重建世界蕨类植物科级系统发育框架, 恢复马通蕨目级分类地位, 构建新型孢子囊环带演化模式, 研究成果入选《植物学报》“2017年中国植物科学若干领域重要研究进展”并获得高度评价。主持并承担国家自然科学基金、科技部科技基础资源调查专项、广东省自然科学基金、深圳市基础研究专项等项目10多项; 以第一作者或通讯作者身份在 *Gigascience*、*Molecular Phylogenetics and Evolution*、*Journal of Systematics and Evolution*、*Phytotaxa*、*Frontiers in Plant Science* 及 *Genes* 等SCI期刊和中文核心期刊发表研究论文100余篇, 主编专著7部; 采集植物标本25 000余号, 发表新种15个, 新属1个。