

## 果实成熟及品质形成的负调控因子研究进展

薛 茂, 朱本忠\*, 吴培文, 杜莹琳, 初易洋, 张瑞家

(中国农业大学食品科学与营养工程学院 北京 100083)

**摘要** 果实成熟及品质形成是植物果实生命周期中的一个重要阶段,其受到诸多调控因子的共同调控,可以分为正调控因子和负调控因子。过去果实成熟调控方面的研究主要集中于正调控因子的挖掘及功能解析,而现在果实成熟相关的负调控因子也逐渐受到研究者的关注。本文综述近年来发现的果实成熟及品质形成相关的负调控因子,根据其成熟及品质形成关键基因的调控方式可分为:参与转录水平调控的转录抑制子,参与转录后水平和翻译后水平的负调控因子以及其它负调控因子 4 大类,并对相关后续研究方向进行探讨与展望。

**关键词** 果实成熟; 品质形成; 负调控因子

**文章编号** 1009-7848(2022)09-0312-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.09.033

果实的发育与成熟是高等植物生命周期中的一个特有阶段,它包含细胞分裂与分化、细胞膨大、果实发育、果实成熟与衰老 5 个阶段<sup>[1]</sup>。而果实成熟是果实食用品质形成的关键时期。在这个时期,大量成熟相关基因的时空特异性表达使得果实发生颜色、风味、质地等一系列生理、生化变化,从而形成果实独特的成熟品质<sup>[1]</sup>。果实成熟受诸多调控因子的共同调控,如乙烯的信号转导、转录因子的转录调控、DNA 的甲基化修饰等<sup>[2]</sup>。根据对果实成熟进程的调控作用,将这些调控因子分为正调控因子和负调控因子。过去关于果实成熟和品质调控的研究主要集中于正调控因子的挖掘与功能解析,而近年来研究发现负调控因子在果实成熟及品质形成中也扮演着十分重要的角色,这其中包括参与转录水平调控的转录抑制子,参与转录后水平调控的负调控因子,参与翻译后水平调控的负调控因子以及其它负调控因子。本文综述近年来发现的参与果实成熟及品质形成的各类负调控因子及其作用机制,旨在为果实成熟及品质形成的深入研究提供理论基础与研究思路。

### 1 参与转录水平调控的转录抑制因子

转录因子是一类具有特定功能的蛋白质,它通

过结合靶基因的启动子区域来激活或抑制基因的转录过程,从而保证目的基因以特定的强度在特定的时间与空间表达。转录因子一般含有 DNA 结合区、寡聚化位点、转录调节区、核信号定位区 4 个功能区<sup>[3]</sup>。其中,转录调节区决定了转录因子是激活还是抑制靶基因的转录。因此,我们可以根据转录因子的功能将其分为转录激活子和转录抑制子两种类型。转录抑制子又可以分为被动抑制子和主动抑制子。被动抑制子主要通过竞争相同的 DNA 结合位点或与激活子结合形成一个没有激活活性的复合物来发挥转录抑制作用<sup>[4]</sup>。主动抑制子含有一个抑制域,通常通过染色体结构修饰(如组蛋白的去乙酰化)或者与激活子相互作用而行使抑制功能<sup>[4-5]</sup>。主动抑制子的抑制域又可分为 EAR 基序<sup>[6]</sup>、LxLxL 基序<sup>[6]</sup>、富脯氨酸抑制域<sup>[7]</sup>、DLN 盒<sup>[8]</sup>以及 OVATE 抑制域 5 个类型<sup>[9]</sup>。

#### 1.1 AP2/ERFs 家族转录因子

AP2/ERFs 具有 APETALA2 (AP2)/乙烯响应元件结合因子(EREB)结构域的特征,该结构域含有 40~70 个保守的与 DNA 结合相关的氨基酸。AP2/ERFs 家族包含 AP2、RAV、DREB 和 ERF 4 个主要的亚家族<sup>[10]</sup>。目前研究表明,AP2/ERF 家族转录因子参与植物生长发育、果实成熟及防御反应等多种代谢途径<sup>[12-14]</sup>,其可以作为乙烯信号通路中的响应元件,从而调控乙烯、生长素(indole-3-acetic acid, IAA)、细胞分裂素、赤霉素(Gib-

收稿日期: 2021-09-17

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31871847)

作者简介: 薛茂(1997—),女,硕士

通信作者: 朱本忠 E-mail: zbz@cau.edu.cn

berellins, GAs) 和脱落酸 (Abscisic acid, ABA) 等植物激素的生物合成<sup>[11-13]</sup>。

在番茄果实中, *SlAP2a* 基因的表达水平与果实成熟进程呈正相关, 并在红熟期维持较高的水平。在番茄植株中通过 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 沉默 *SlAP2a* 基因后, 转基因番茄果实发育及成熟发生了显著改变, 包括果实体积变小, 果实成熟提前及软化提前等。同时, *SlAP2a* 基因沉默的番茄果实乙烯合成增加, 番茄红素的积累显著降低, 而  $\beta$ -胡萝卜素及叶绿素含量显著增加, 成熟相关基因 (*ACS2*、*ACS4*、*ACO1*、*E4*、*E8*、*RIN* 以及 *PG2a*) 的表达水平上升, 这表明 *SlAP2a* 可以通过抑制乙烯与类胡萝卜素的生物合成负向调控果实成熟<sup>[14]</sup>。利用 RNAi 沉默番茄中的 *SlERF6*, 转基因番茄果实的类胡萝卜素含量以及乙烯释放量均升高, 同时乙烯合成相关基因 *ACS2*、*ACO1* 和 *ACO3* 的表达量升高, 表明 *SlERF6* 能够通过直接或间接的方式抑制番茄果实类胡萝卜素的积累和乙烯的合成, 是番茄果实成熟的抑制子<sup>[15]</sup>。

在枇杷果实中, 转录因子 *EjAP2-1* 可以通过负调控木质素的生物合成从而影响枇杷果实成熟过程中的质地和风味。Zeng 等<sup>[16]</sup>从低温贮藏的枇杷果实中分离了 18 个 AP2/ERF 家族基因, 发现 *EjAP2-1* 的表达水平与果实木质化程度呈负相关, 且序列分析表明其具有 1 个 EAR 抑制基序。同时, 双荧光素酶分析表明, *EjAP2-1* 可以抑制木质素生物合成关键基因 *Ej4CL1* 启动子的活性, 但 *EjAP2-1* 并未直接作用于 *Ej4CL1* 的启动子区域。进一步研究发现, *EjAP2-1* 与木质素生物合成相关的 *EjMYB1* 和 *EjMYB2* 蛋白之间存在互作, 其通过与 *EjMYB1* 或 *EjMYB2* 结合共同抑制 *Ej4CL1* 启动子的活性。因此, *EjAP2-1* 是木质素生物合成的间接转录抑制子, 其抑制作用主要来源于 EAR 抑制区域, 并通过与 *EjMYB* 蛋白的互作来实现。

在猕猴桃果实中, Yin 等<sup>[17]</sup>研究发现 *AdERF9* 基因也含有 EAR 抑制域, 其能够与细胞壁降解相关基因 *AdXET5* 的启动子结合并抑制其转录, 从而在转录水平上负调控猕猴桃果实的成熟和软化。

在苹果果实中, 利用病毒诱导基因沉默 (Virus-induced gene silencing, VIGS) 技术瞬时沉

默 *MdERF2* 基因后, 苹果果实的乙烯释放量显著增加且果实成熟提前。进一步研究发现, 转录因子 *MdERF2* 通过和乙烯生物合成关键基因 *MdACS1* 的启动子结合并抑制其转录, 同时, *MdERF2* 还可以通过抑制 *MdERF3* 启动子的活性, 间接抑制 *MdACS1* 的表达。因此, *MdERF2* 通过多种机制抑制 *MdACS1* 的转录, 从而负调控苹果果实的乙烯生物合成及成熟进程<sup>[18]</sup>。

在香蕉果实中, 转录因子 *MaERF11* 可以将 *MaHDA1* 蛋白募集到乙烯合成关键基因 *MaACO1* 和果实软化相关基因 *MaEXP2/7/8* 的启动子上并抑制其转录, 同时通过组蛋白去乙酰化来抑制这些基因的表达, 说明 *MaERF11* 通过抑制乙烯合成和细胞壁代谢相关基因的表达来负调控香蕉果实成熟<sup>[19]</sup>。此外, 在香蕉中与番茄 *SlAP2a* 同源性较高的转录因子 *MaAP2a-1* 也是一个转录抑制子, 其通过与香蕉果实中 15 个淀粉降解基因的启动子结合并抑制其转录, 进而抑制香蕉果实采后成熟过程中的淀粉降解<sup>[20]</sup>, 负向调控香蕉果实的后熟过程。*MaDEAR1* 是香蕉中的 DREB 亚家族基因, 预测其编码的蛋白质具有与 DRE 结合的 *APETALA2* (*AP2*) 域和负责转录抑制的 EAR 基序, 双荧光素酶报告试验也表明其具有转录抑制活性。在香蕉果实成熟过程中, *MaDEAR1* 调控区域的组蛋白 H3 和 H4 乙酰化水平降低, 同时 *MaDEAR1* 可直接与细胞壁修饰基因 (包括 *MaEXP1/3*、*MaPG1*、*MaXTH10*、*MaPL3* 和 *MaPME3*) 的启动子上的 DRE/CRT 基序结合并抑制其活性, 进而负调控香蕉果实的成熟软化<sup>[21]</sup>。Kuang 等<sup>[22]</sup>通过 ChIP-Seq 在香蕉基因组上确定了 697 个 *MaDREB2* 的潜在靶标, 其结合位点分布在转录起始位点附近的启动子区域。大多数 *MaDREB2* 的靶标均包含保守的 (A/G)CC(G/C)AC 基序, 结合转录组分析, *MaDREB2* 可能直接调控了许多与果实成熟相关基因的表达, 且可同时作为转录激活子和转录抑制子调控香蕉果实成熟。

## 1.2 MYB 家族转录因子

MYB 家族转录因子氨基酸序列上都有一段保守的 DNA 结合区域, 该结构域的 N 端是高度保守的, 包含 1~3 个串联且不完全重复的结构: R1/R2/R3。根据 MYB 转录因子含有的 R 结构个数将

其分为4类:R1-MYB蛋白、R2R3-MYB蛋白、R1R2R3-MYB蛋白以及含有4个R结构的MYB转录因子<sup>[23]</sup>。具有转录抑制活性的MYB转录因子一般C端具有1个EAR抑制基序或者TLLFR抑制基序<sup>[24]</sup>。

在香蕉果实中,转录因子MaMYB3可以与淀粉降解的关键酶基因MaGWD1的启动子区域结合并抑制其表达。同时, MaMYB3还抑制了其它9个与淀粉降解相关基因的转录,包括*MaSEX4*、*MaBAM7/8*、*MaAMY2B*、*MaAMY3*、*MaAMY3A*、*MaAMY3C*、*MaMEX1*和*MapGlcT2-1*。同时,与淀粉降解相关的转录激活子*MabHLH6*的启动子活性也被MaMYB3抑制。在番茄中异源过表达*MaMYB3*会下调淀粉降解相关基因的表达水平,抑制淀粉降解并延迟果实成熟。因此, MaMYB3可以通过直接结合并抑制淀粉降解相关基因的启动子,同时抑制淀粉降解相关的转录激活子编码基因*MabHLH6*的转录来负调控香蕉果实的成熟<sup>[25]</sup>。

在番茄果实中, Cao等<sup>[26]</sup>发现了一个依赖于EAR基序的转录抑制子SIMYB70。SIMYB70可以通过直接结合乙烯合成关键基因*SlACS2*和*SlACO3*的启动子区域并抑制其转录,导致乙烯生物合成受到抑制,进而负调控番茄果实的成熟进程。

在茄子果实中,利用VIGS技术沉默SmMYB19后,茄子果实中的花青素含量显著增加,并且花青素合成途径中的结构基因*CHI*、*F3GT*、*PAL*、*DFR*、*ANS*、*5GT*、*UFGT*的表达模式发生明显改变,这说明转录因子SmMYB19可抑制茄子果实花青素的积累,从而调控茄子果实的成熟过程中的品质形成<sup>[27-28]</sup>。

在柑桔果实中, R2R3-MYB转录因子CrMYB68可以直接结合*CrBCH2*和*CrNCED5*的启动子并抑制其转录,导致 $\alpha$ -胡萝卜素和 $\beta$ -胡萝卜素的转化以及ABA的生物合成受到抑制,从而负调控柑桔果实的成熟和营养品质的形成<sup>[29]</sup>。CsMYB77结构上也属于R2R3类MYB转录因子,过表达*CsMYB77*基因的柑桔果实破色时间延长3d,说明其可能负调控柑桔果实的成熟进程<sup>[30]</sup>。

在鸭梨果实中,转录因子PbMYB120被认为是一种潜在的花青素生物合成调节因子。*PbMYB120*的瞬时过表达抑制了花青素的积累和花

色苷生物合成关键基因*PbUFGT1*的表达。进一步研究表明PbMYB120可与*PbUFGT1*的启动子结合并抑制其启动子的活性,进而负调控花色苷的生物合成。此外, PbMYB120可能与花色苷转录激活因子协同作用,平衡鸭梨果实成熟进程中的花色苷积累<sup>[31]</sup>。

### 1.3 MADS-box 家族转录因子

MADS-box家族转录因子广泛存在于真核生物中,其在植物中行使多种重要的生物学功能,特别是在花器官发育,果实发育与成熟过程中<sup>[32]</sup>。MADS-box结构域通常位于MADS-box转录因子的N末端,是MADS-box转录因子的DNA结合单元,负责识别和结合靶基因的启动子。MADS-box蛋白间通常存在相互作用,可结合成同源二聚体,有时也能与其它蛋白或辅助因子结合形成异源二聚体<sup>[32]</sup>。与果实成熟及品质形成相关的MADS-box家族转录抑制子在番茄中发现较多,下面主要介绍在番茄中发现的相关转录抑制子。

转录因子SIMADS1属于SEPALLATA(SEP)亚家族。研究表明,*SIMADS1*主要在番茄果实中表达,并且表达水平随着果实的发育和成熟而逐渐降低。通过RNAi技术沉默*SIMADS1*后,转基因番茄果实成熟时间提前3~6d,类胡萝卜素水平显著提高,果实的乙烯生成量提高了约2~4倍。果实成熟相关基因*ACS2*、*ACO1*、*ACO3*、*E4*以及*E8*基因表达量上升,两个参与胁迫应答的基因*ERF1*和*Pti4*表达水平下降,表明SIMADS1在番茄果实成熟过程中起着负调控作用<sup>[33]</sup>。

转录因子SIFYFL被证实是番茄果实成熟的负调控因子。在番茄中过表达*SIFYFL*后,转基因番茄果实成熟延迟,类胡萝卜素积累减少,乙烯生物合成水平和乙烯响应基因表达水平显著下调。同时,转基因果实离层不能正常形成,并且离层发育相关的基因表达量下降。进一步研究发现, FYFL可以分别与RIN, MADS1和JOINTLESS相互作用,表明FYFL可以通过与果实成熟和离层发育相关的MADS-box蛋白相互作用来调控果实成熟进程和离层的发育<sup>[34]</sup>。

MADS家族转录因子SIMBP8也以负调控因子的形式参与番茄果实成熟的调控网络。与野生型番茄果实相比, SIMBP8沉默的转基因番茄果

实的成熟时间缩短了 2~4 d。转基因番茄果实的乙烯生成量和类胡萝卜素水平上升, 乙烯合成途径相关基因 *ACO1*、*ACO3*、*ACS2*、*ERF1*、*E4* 和 *E8* 和类胡萝卜素生物合成途径的关键基因 *PSY1*、*PDS* 和 *ZDS* 的表达水平上调, 细胞壁代谢相关基因如 *PG*、*EXP*、*HEX*、*TBG4*、*XTH5* 和 *XYL* 的表达水平也同样上调。这些结果表明 *SIMBP8* 在果实成熟和软化中起重要的负调控作用<sup>[35]</sup>。

转录因子 *SISL4* 也被认为参与番茄果实成熟的负调控。在番茄果实中过表达 *SISL4*, 转基因番茄果实成熟时间推迟, 且转基因番茄果实中乙烯生物合成相关基因(*ACO1*、*ACO3*、*ACS2*)和成熟相关关键转录因子基因 *RIN* 的表达水平在果实成熟阶段被显著下调, 乙烯响应基因(*E4*、*E8*、*ERF1*)的表达水平同样下调, 类胡萝卜素合成关键酶基因 *PSY1* 的表达水平在成熟前期显著低于野生型果实, 说明 *SISL4* 基因可能通过抑制乙烯合成和类胡萝卜素合成途径, 从而负调控番茄果实的成熟<sup>[36]</sup>。

此外, 在枇杷果实中, *MADS*-box 家族转录因子 *EjMADS1* 被发现可以结合参与木质化调控的转录激活子 *EjMYB8* 的启动子, 并显著抑制其活性。结合其表达模式与序列结构信息, 推测 *EjMADS1* 是枇杷果实木质素合成的转录抑制子<sup>[37]</sup>。

#### 1.4 锌指蛋白家族转录因子

锌指蛋白(Zinc finger protein, ZFP)转录因子家族是植物中最大的转录因子家族之一, 其结构域是由锌原子作为核心、半胱氨酸和组氨酸包围锌原子形成的稳定三维结构<sup>[38]</sup>。根据与锌离子结合的半胱氨酸和组氨酸残基数目, 可分为 C2H2、C2C2、C2HC、C2HC5、CCCH、C3HC4、C4、C4HC3、C6、C8 这 10 种不同类型。锌指蛋白主要通过 DNA、RNA 结合以及与其它蛋白互作来激活或抑制基因的转录, 在植物的转录调控、生长发育、抗逆等生物学过程中发挥着重要的作用<sup>[39]</sup>。

在番茄果实中, 锌指蛋白家族转录因子 *SICOL4* 可作为果实成熟过程中 ABA 和乙烯信号转导的一个互作位点, 且对果实成熟进程起负调控作用。通过 VIGS 沉默 *SICOL4* 可以促进番茄果实成熟。与野生型果实相比, *SICOL4* 沉默果实中乙烯合成通路关键基因 *ACO1*、*ACS2* 和 *ACS4*

的表达水平显著上升, 说明转录因子 *SICOL4* 在果实中通过负调控乙烯的生物合成对果实成熟过程起负调控作用<sup>[40]</sup>。

在香蕉果实中, *MaDof23* 也是一个转录抑制子, 其可以与促进香蕉果实成熟的转录激活子 *MaERF9* 互作。同时, 这两个蛋白之间存在拮抗作用, 竞争 *MaEXPI2/3/5*、*MaXET7*、*MaPG1*、*MaPME3* 等果实成熟相关基因的启动子位点, 进而调控果实成熟过程中的细胞壁降解和香气合成<sup>[41]</sup>。

## 2 转录后水平的负调控因子

### 2.1 MicroRNAs(miRNAs)类负调控因子

miRNAs 是一类拥有 20~24 个核苷酸(或碱基对), 可以在转录后水平调控真核生物基因表达的特殊小分子非编码 RNA。在植物中, miRNAs 通过对含有高度互补序列的靶 mRNA 进行切割或翻译抑制, 进而负调控靶 mRNA 的进一步表达<sup>[42]</sup>。成熟的 miRNAs 来源于单链 RNA 转录本, 具有不完善的茎环二级结构<sup>[43]</sup>。这些二级结构被 *DCL1* 加工成细胞核中的 miRNA 双链, 并被运输到细胞质中<sup>[44-45]</sup>, 随后 miRNAs 被整合到 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)中, RISC 利用 miRNAs 作为向导来识别互补的靶 mRNA, 并通过降解或抑制其翻译来负调控它们的表达<sup>[46-47]</sup>。植物 miRNAs 参与多种重要的生物学过程, 如叶片形态建成、花器官识别、逆境应答以及果实成熟等<sup>[42]</sup>。

在柿子果实中, 原花青素(Proanthocyanidin, PA)的生物合成受相关结构基因控制, 而这些结构基因又受到一系列转录因子的转录调控, 例如 PA 生物合成途径中的转录激活子 *DkMYB19* 和 *DkMYB20*。miRNAs 是转录后水平调控基因表达的关键调控因子, 在果实中瞬时过表达 *miR858b* 会抑制 *DkMYB19*、*DkMYB20* 以及 PA 生物合成通路中关键基因的表达, 从而负调控柿子果实成熟进程中 PA 的积累<sup>[48]</sup>。

在猕猴桃果实中, *miR858* 在花青素生物合成和积累中起负调控作用。过表达 *miR858* 使得猕猴桃果实的着色程度很低, 且花青素的积累几乎被完全阻断。在烟草中进行瞬时共转化试验证实 *miR858* 可以靶向 MYB-R2R3 型花青素生物合成

转录激活子 AaMYBC1 的编码基因,且 *miR858* 过表达比 AaMYBC1 沉默对猕猴桃果实着色的抑制作用更强。类似的,在番茄果实中,*miR858* 通过抑制两个 MYB-R2R3 型转录因子的表达来负调控番茄果实中的花色苷生物合成<sup>[49]</sup>。

在番茄果实中,过表达 *Sly-miR157* 前体和成熟体基因均能显著延缓 Ailsa Craig 番茄果实的成熟进程。进一步研究发现,*Sly-miR157* 在体内高丰度表达时,可直接对 *LeSPL-CNR* mRNA 进行切割,抑制 *LeSPL-CNR* 基因表达和后续的蛋白翻译。但当 *Sly-miR157* 表达量降低时,其仅在翻译水平上抑制 *LeSPL-CNR* 而不影响 *LeSPL-CNR* mRNA 表达<sup>[50]</sup>。

## 2.2 长链非编码 RNA(Long non-coding RNA, lncRNA)类负调控因子

LncRNA 是长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA。LncRNA 可以在转录、转录后以及表观遗传水平上调节基因表达,从而在染色质重塑、转录激活和转录抑制等生物学过程中发挥重要作用。现在已有的研究表明 lncRNA 在应对非生物和生物胁迫<sup>[51]</sup>、开花<sup>[52]</sup>以及果实成熟<sup>[53]</sup>等过程中起重要作用。

在沙棘果实中,通过 VIGS 沉默 LNC1 会导致果实花青素含量增加和花青素生物合成途径结构基因 *F3'H*、*DFR* 和 *LDOX* 的表达水平上升。同时,LNC1 的沉默也会导致 *miR156a* 表达水平上升以及花青素合成负调控因子 *SPL9* 表达水平下调。现有的研究表明,*miR156a* 能抑制花青素生物合成途径的转录抑制子 *SPL9* 的丰度从而正调控花青素的合成过程<sup>[54]</sup>。因此,LNC1 可能通过抑制 *miR156a* 的表达来增加转录因子 *SPL9* 的丰度,从而负向调控花青素的合成和累积<sup>[55]</sup>。

在荔枝果实中,lncNAC13 能够负调控花青素生物合成相关基因 *LcCHS1/2*、*LcCHI*、*LcF3H*、*LcF3'H*、*LcDFR* 和 *LcMYB1* 的表达,从而抑制荔枝果实成熟进程中花青素的积累<sup>[56]</sup>。

## 3 翻译后水平的负调控因子

在植物的生长发育过程中,蛋白质的泛素化修饰发挥着重要的生物学作用,包括参与调控细胞生命周期,激素信号转导和机体的损伤修复等

几乎一切生命活动。泛素-蛋白酶体系统可以介导泛素化的靶蛋白选择性降解,其中泛素通过 3 种酶:泛素激活酶 E1,泛素结合酶 E2 和泛素连接酶 E3 的作用与靶蛋白共价连接,泛素首先被 E1 激活,活化的泛素被转移至 E2、E3 募集靶蛋白和泛素分子并将泛素转移至靶蛋白,随后泛素化的靶蛋白可被蛋白酶体降解,进而形成多种生物学效应<sup>[57]</sup>。

在香蕉果实中,通过蛋白互作验证试验和泛素降解试验发现,RING 类 E3 泛素连接酶 MaXB3 可与转录因子 MaNAC2、乙烯生物合成途径关键酶 MaACS1 和 MaACO1 互作,并通过 26S 蛋白酶体途径泛素化降解 MaNAC2、MaACS1 和 MaACO1,削弱 MaNAC2 对成熟负调控因子 MaERF11 编码基因的转录抑制能力和乙烯生物合成,进而负调控香蕉果实的成熟进程<sup>[58]</sup>。*MaLUL2* 基因编码香蕉中的一个环状 E3 泛素连接酶,其在体外具有 E3 泛素连接酶活性。在香蕉果皮中瞬时过表达 *MaLUL2* 提高了果实的泛素化水平,并导致了持绿表型,同时叶绿素降解代谢基因的表达下调。这表明 *MaLUL2* 可能作为一个负调控因子调控香蕉果实成熟和叶绿素降解<sup>[59]</sup>。

在番茄果实中,F-box 蛋白 SIAMR1 可能通过其保守结构域 F-box 构成 SCF E3 泛素连接酶 (Skp1-Cul1-F-box 蛋白),进而发挥其生物学功能。在番茄中过表达 *SIAMR1* 后,对转基因果实做泛素表达水平检测,发现其泛素表达水平上调,抗坏血酸的积累减少,而沉默 *SIAMR1* 的转基因番茄果实中抗坏血酸积累增多。这表明 *SIAMR1* 可能通过泛素-蛋白酶体途径负调控番茄果实成熟过程中抗坏血酸的生物合成<sup>[60]</sup>。

在苹果果实中,RING 型 E3 泛素连接酶 MdMIEL1 可与苹果花色苷生物合成和果实着色的关键正调节因子 MdMYB1 的互作,并促进 MdMYB1 泛素化降解,从而负调控苹果果实花青素的积累<sup>[61]</sup>。同时,苹果泛素 E3 连接酶 MdCOP1 也可以与 MdMYB1 互作,并通过泛素化降解 MdMYB1 蛋白来负调控苹果果实成熟进程中的果皮着色<sup>[62]</sup>。此外,SmCOP1 也可以在番茄果实成熟、类胡萝卜素积累以及乙烯生成等方面发挥负调控作用<sup>[63]</sup>。BTB 蛋白是 CUL3-RING E3 连接酶和底物蛋白

之间的桥梁,是蛋白泛素化降解途径中的必要元件。MdMYB9 是苹果果实花青素和原花青素生物合成途径中的正调控因子, MdWRKY40 是创伤诱导的花色苷生物合成的关键调节因子。MdBT2 可以与 MdMYB9 和 MdWRKY40 相互作用, 并通过 26S 蛋白酶体系统负调控 MdMYB9 和 MdWRKY40 蛋白的丰度, 进而降低花色苷和原花色素相关基因的表达水平, 减少苹果果实成熟进程中花色苷和原花色素的积累<sup>[64]</sup>。

在葡萄果实中, E3 连接酶 VIPUB38 是葡萄果实成熟的一个负调控因子。在草莓中异源过表达 VIPUB38 会导致草莓果实表现出显著的成熟抑制表型, 但外源 ABA 处理可以使其恢复为正常的成熟表型。进一步研究表明, VIPUB38 的 U-box 保守结构域具有泛素连接酶活性, 其通过与 ABA 生物合成途径中的关键因子脱落醛氧化酶(VIAAO)相互作用, 并通过 26S 蛋白酶体系统靶向降解 VIAAO, 从而抑制 ABA 的生物合成, 进而负调控葡萄果实的成熟过程<sup>[65]</sup>。

#### 4 其它负调控因子

除转录因子和泛素化途径相关蛋白外, 部分其它蛋白也可以通过不同途径参与果实成熟及品质形成的负调控。乙烯受体蛋白 ETR 是果实成熟的负调控因子, 其通过激活下游的蛋白激酶 CTR 抑制乙烯信号的转导, 从而负调控果实成熟。沉默 *SlETR4* 或 *SlETR6*, 可导致番茄果实提早成熟。位于 ETR 下游的蛋白激酶 CTR 也是乙烯信号转导途径的负调控因子, 其通过使乙烯信号转导元件 EIN2 发生磷酸化抑制乙烯信号传递至细胞核, 从而负调控果实成熟<sup>[66]</sup>。利用 VIGS 技术沉默番茄果实中的 *CTR1* 基因, 发现番茄果实 *CTR1* 基因沉默部位提前成熟, 证实了 SlCTR1 对番茄果实成熟具有负调控作用<sup>[67]</sup>。此外, Polycomb-group (PcG) 蛋白是一类可以通过甲基化和泛素化等染色质修饰来调控靶基因表达的负调控因子。在番茄中, PcG 蛋白 SIMS1 通过负调控成熟相关基因 (*RIN*, *CNR*, *TDR4*, *ACS2*, *ACS4*, *PG*, *MAN4*) 的表达来抑制果实成熟<sup>[68]</sup>。Han 等<sup>[69]</sup>发现高温可以显著加速草莓果实成熟的启动, 且高温条件下一系列果实成熟相关基因的表达水平会迅速上调。进一步研究发现,

过表达草莓蛋白激酶基因 *FaSnRK2.6* 可以抑制高温诱导的成熟相关基因的表达, 且成熟相关基因的表达水平始终与 *FaSnRK2.6* 的表达水平呈负相关, 这表明 *FaSnRK2.6* 可能负调控高温诱导的草莓果实成熟。

DNA 甲基化修饰的相关因子可参与果实成熟及品质形成的调控。DNA 甲基化修饰是 DNA 序列上的特定碱基在 DNA 甲基化酶的作用下从 S-腺苷甲硫氨酸获得 1 个甲基并与其共价结合的过程, 该过程主要通过调控色素、芳香族化合物和植物激素生物合成以及细胞壁降解途径中关键基因的表达水平来调控番茄、草莓、甜橙等各类果实的成熟进程<sup>[70-72]</sup>。利用 VIGS 技术将甜椒中编码甲基化酶的 *CaMET1-like1* 基因沉默可以使辣椒果实成熟提前 4~8 d, 且可促进六氢番茄红素  $\beta$ -胡萝卜素、玉米黄质、叶黄素等在辣椒果实中的积累, 说明甲基化酶 *CaMET1-like1* 是辣椒果实成熟的一个负调控因子<sup>[73]</sup>。

植物激素在果实成熟和品质形成的过程中起到重要的调控作用。例如 GAs 通常被认为可以抑制果实成熟<sup>[74]</sup>, 而 IAA 通常被认为是非呼吸跃变型果实成熟的抑制因子, 其通过拮抗 ABA 的作用而对果实成熟起到负调控作用<sup>[75]</sup>。水杨酸可通过抑制乙烯生物合成关键酶 ACO 的活性负调控乙烯的生物合成, 进而抑制果实成熟进程<sup>[76]</sup>。此外, 褪黑素作为一种重要的植物内源激素, 近年也被认为是一种果实成熟的负调控因子, 并广泛应用于延缓果实采后衰老, 例如外源褪黑素处理可通过诱导提高荔枝果实的内源褪黑素水平和抗氧化能力以延缓荔枝果实在常温贮藏期间的衰老进程, 通过抑制芒果果实乙烯和脱落酸的生物合成延缓采后芒果果实的成熟进程<sup>[77]</sup>。

植物体内的生物活性分子 NO 也是果实成熟过程中重要的负调控因子。在果实成熟过程中, NO 含量逐渐降低, 同时伴随着蛋白质硝化和亚硝化水平的上升。而大量研究表明, 外源 NO 处理可有效延缓果实成熟, 抑制果实冷害的发生, 提高果实的抗病能力和营养品质<sup>[78]</sup>。此外, NO 供体硝酸盐也是柑桔果实成熟的负调控因子, 其可以通过促进叶绿素的生物合成并抑制类胡萝卜素的积累, 进而延迟柑桔果实破色<sup>[79]</sup>。

## 5 结语

植物果实具有复杂的调控机制来精确调控果实成熟及品质形成,以适应各种发育和环境信号。对果实成熟及品质形成调控的大量研究发现了一系列相关正调控因子,但研究也表明,果实的成熟及品质形成过程中也受到诸多负调控因子的调控,这可能是植物为了平衡在相同代谢路径中产生潜在的有毒物质,降低对细胞产生的不良影响,或是降低果实成熟过程中物质和能量的消耗,从而更好地适应多变的环境。尽管目前关于负调控因子的研究取得了较大进展,但仍然有很多科学问题亟待解决,例如还有许多果实成熟与品质形成的负调控因子尚未被发现、负调控因子与正调控因子协同作用的具体机制、负调控因子与正调控因子在特殊条件下的相对性等。因此,继续挖掘相关负调控因子并深入研究其对果实成熟及品质形成的调控机制具有重要的生物学意义,这有助于完善植物果实成熟及品质形成的分子调控网络,同时为深刻认识植物的发育与适应性进化提供重要的参考。

## 参 考 文 献

- [1] KLEE H J, GIOVANNONI J J. Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes [J]. *Annu Rev Genet*, 2011, 45: 41-59.
- [2] GIOVANNONI J, NGUYEN C, AMPOFO B, et al. The Epigenome and transcriptional dynamics of fruit ripening [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2017, 68 (1): 61-84.
- [3] LIU L, WHITE M J, MACRAE T H. Transcription factors and their genes in higher plants functional domains, evolution and regulation [J]. *Eur J Biochem*, 1999, 262(2): 247-257.
- [4] GASTON K, JAYARAMAN P S. Transcriptional repression in eukaryotes: Repressors and repression mechanisms [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2003, 60 (4): 721-741.
- [5] KAZAN K. Negative regulation of defence and stress genes by EAR-motif-containing repressors [J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11(3): 109-112.
- [6] TIWARI S B, HAGEN G, GUILFOYLE T J. Aux/IAA proteins contain a potent transcriptional repression domain [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(2): 533-543.
- [7] LIU Z B, HAGEN G, GUILFOYLE T J. A G-Box-Binding protein from soybean binds to the E1 auxin-response element in the soybean GH3 promoter and contains a proline-rich repression domain [J]. *Plant Physiol*, 1997, 115(2): 397-407.
- [8] SAKAMOTO H, MARUYAMA K, SAKUMA Y, et al. Arabidopsis Cys2/His2-type zinc-finger proteins function as transcription repressors under drought, cold, and high-salinity stress conditions [J]. *Plant Physiol*, 2004, 136(1): 2734-2746.
- [9] WANG S, CHANG Y, GUO J, et al. Arabidopsis ovate family protein 1 is a transcriptional repressor that suppresses cell elongation [J]. *Plant J*, 2007, 50 (5): 858-872.
- [10] NAKANO T, SUZUKI K, FUJIMURA T, et al. Genome-wide analysis of the ERF gene family in Arabidopsis and rice [J]. *Plant Physiol*, 2006, 140 (2): 411-432.
- [11] FENG K, HOU X L, XING G M, et al. Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant [J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2020, 40(6): 750-776.
- [12] LI Y C, ZHU B Z, XU W T, et al. LeERF1 positively modulated ethylene triple response on etiolated seedling, plant development and fruit ripening and softening in tomato [J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26(11): 1999-2008.
- [13] ZHU X L, QI L, LIU X, et al. The wheat ethylene response factor transcription factor pathogen-induced ERF1 mediates host responses to both the necrotrophic pathogen *Rhizoctonia cerealis* and freezing stresses [J]. *Plant Physiol*, 2014, 164(3): 1499-1514.
- [14] CHUNG M Y, VREBALOV J, ALBA R, et al. A tomato (*Solanum lycopersicum*) APETALA2/ERF gene, *SlAP2a*, is a negative regulator of fruit ripening [J]. *Plant J*, 2010, 64(6): 936-947.
- [15] LEE J M, JOUNG J G, MCQUINN R, et al. Combined transcriptome, genetic diversity and metabolite profiling in tomato fruit reveals that the ethylene response factor *SlERF6* plays an important role in ripening and carotenoid accumulation [J]. *Plant J*, 2012, 70(2): 191-204.
- [16] ZENG J K, LI X, XU Q, et al. *EjAP2-1*, an AP2/ERF gene, is a novel regulator of fruit lignifi-

- ation induced by chilling injury, via interaction with E<sub>j</sub>MYB transcription factors[J]. *Plant Biotechnol J*, 2015, 13(9): 1325–1334.
- [17] YIN X R, ALLAN A C, CHEN K S, et al. Kiwifruit EIL and ERF genes involved in regulating fruit ripening [J]. *Plant Physiol*, 2010, 153 (3): 1280–1292.
- [18] LI T, JIANG Z Y, ZHANG L C, et al. Apple (*Malus domestica*) MdERF2 negatively affects ethylene biosynthesis during fruit ripening by suppressing MdACS1 transcription [J]. *Plant J*, 2016, 88 (5): 735–48.
- [19] HAN Y C, KUANG J F, CHEN J Y, et al. Banana transcription factor MaERF11 recruits histone deacetylase MaHDA1 and represses the expression of MaACO1 and expansins during fruit ripening [J]. *Plant Physiol*, 2016, 171(2): 1070–1084.
- [20] 萧允艺. 转录因子 MaAP2a-1 和 MabHLH6 调控采后香蕉果实淀粉降解的作用及其机制研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2017.
- XIAO Y Y. The function and mechanism of transcription factor MaAP2a-1 and MabHLH6 in regulation of postharvest banana starch degradation [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017.
- [21] FAN Z Q, KUANG J F, FU C C, et al. The Banana transcriptional repressor MaDEAR1 negatively regulates cell wall-modifying genes involved in fruit ripening[J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1021.
- [22] KUANG J F, CHEN J Y, LIU X C, et al. The transcriptional regulatory network mediated by banana (*Musa acuminata*) dehydration-responsive element binding (MaDREB) transcription factors in fruit ripening[J]. *New Phytol*, 2017, 214(2): 762–781.
- [23] MARTIN C, PAZ-ARES J. MYB transcription factors in plants[J]. *Trends Genet*, 1997, 13(2): 67–73.
- [24] MA D, CONSTABEL C P. MYB repressors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants [J]. *Trends Plant Sci*, 2019, 24(3): 275–289.
- [25] FAN Z Q, BA L J, SHAN W, et al. A banana R2R3-MYB transcription factor MaMYB3 is involved in fruit ripening through modulation of starch degradation by repressing starch degradation-related genes and MabHLH6[J]. *Plant J*, 2018, 96(6): 1191–205.
- [26] CAO H H, CHEN J, YUE M, et al. Tomato transcriptional repressor MYB70 directly regulates ethylene-dependent fruit ripening[J]. *Plant J*, 2020, 104 (6): 1568–1581.
- [27] HE Y J, CHEN H, ZHOU L, et al. Comparative transcription analysis of photosensitive and non-photosensitive eggplants to identify genes involved in dark regulated anthocyanin synthesis[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 678.
- [28] 扶京龙. 调控茄子果实着色 MYB 转录因子表达分析及功能鉴定[D]. 广州: 华南农业大学, 2017.
- FU J L. The expression analysis and functional identification of MYB transcription factor in regulation of eggplant fruit coloration[J]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017.
- [29] ZHU F, LUO T, LIU C Y, et al. An R2R3-MYB transcription factor represses the transformation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -branch carotenoids by negatively regulating expression of CrBCH2 and CrNCED5 in flavedo of *Citrus reticulata* [J]. *New Phytol*, 2017, 216 (1): 178–192.
- [30] 郑赛赛. 转录因子 CsMYB21 与 CsMYB77 在柑橘果实成熟过程中的功能解析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- ZHENG S S. The function analysis of transcription factors, CsMYB21 and CsMYB77 in the process of citrus fruit ripening[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [31] SONG L Y, WANG X L, HAN W, et al. PbMYB120 negatively regulates anthocyanin accumulation in pear[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1528.
- [32] SHORE P, SHARROCKS A D. The MADS-box family of transcription factors [J]. *Eur J Biochem*, 1995, 229(1): 1–13.
- [33] DONG T T, HU Z L, DENG L, et al. A tomato MADS-box transcription factor, SIMADS1, acts as a negative regulator of fruit ripening[J]. *Plant Physiol*, 2013, 163(2): 1026–1036.
- [34] XIE Q L, HU Z , ZHU Z G, et al. Overexpression of a novel MADS-box gene SIFYFL delays senescence, fruit ripening and abscission in tomato [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 4367.
- [35] YIN W C, HU Z L, CUI B L, et al. Suppression of the MADS-box gene SIMBP8 accelerates fruit ripening of tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2017, 118: 235–244.



- [36] 徐幸. 番茄 MADS-box 家族转录因子 SOC-like4 (SISL4)调控果实成熟的功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2018.  
XU X. Molecular mechanism of MADS-box transcription factor SOC-like4 (SISL4) regulating tomato fruit ripening[D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [37] 葛航. 转录因子 NAC 与 MADS 参与采后枇杷果实冷害木质化调控研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.  
GE H. Transcriptional regulation of NAC and MADS on loquat fruit lignification induced by postharvest chilling injury[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018.
- [38] HU W, MA H. Characterization of a novel putative zinc finger gene MIF1: Involvement in multiple hormonal regulation of Arabidopsis development[J]. *Plant J*, 2006, 45(3): 399-422.
- [39] BETHKE P C, LIBOUREL I G, REINHART V, et al. Sodium nitroprusside, cyanide, nitrite, and nitrate break Arabidopsis seed dormancy in a nitric oxide-dependent manner[J]. *Planta*, 2006, 223(4): 805-812.
- [40] 吴琼. ABA-乙烯互作调控樱桃番茄果实成熟的效应与机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2019.  
WU Q. Study of ABA-ethylene interaction on the regulation of cherry tomato fruit ripening[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
- [41] FENG B H, HAN Y C, XIAO Y Y, et al. The banana fruit Dof transcription factor MaDof23 acts as a repressor and interacts with MaERF9 in regulating ripening-related genes[J]. *J Exp Bot*, 2016, 67(8): 2263-2275.
- [42] ZUO J H, WANG Y X, LIU H P, et al. MicroRNAs in tomato plants[J]. *Sci China Life Sci*, 2011, 54(7): 599-605.
- [43] JONES-RHOADES M W, BARTEL D P, BARTEL B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 19-53.
- [44] REINHART B J, WEINSTEIN E G, RHOADES M W, et al. MicroRNAs in plants [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(13): 1616-1626.
- [45] EAMENS A L, AGIUS C, SMITH N A, et al. Efficient silencing of endogenous microRNAs using artificial microRNAs in Arabidopsis thaliana [J]. *Mol Plant*, 2011, 4(1): 157-1570.
- [46] LLAVE C, KASSCHAU K D, RECTOR M A, et al. Endogenous and silencing-associated small RNAs in plants[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(7): 1605-1619.
- [47] GANDIKOTA M, BIRKENBIHL R P, HÖHMANN S, et al. The miRNA156/157 recognition element in the 3' UTR of the Arabidopsis SBP box gene SPL3 prevents early flowering by translational inhibition in seedlings[J]. *Plant J*, 2007, 49(4): 683-693.
- [48] YANG S, ZHANG M, XU L Q, et al. MiR858b inhibits proanthocyanidin accumulation by the repression of DkMYB19 and DkMYB20 in persimmon [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 576378.
- [49] LI Y K, CUI W, QI X J, et al. MicroRNA858 negatively regulates anthocyanin biosynthesis by repressing AaMYB1 expression in kiwifruit (*Actinidia arguta*) [J]. *Plant Sci*, 2020, 296: 110476.
- [50] CHEN W W, KONG J H, LAI T F, et al. Tuning LeSPL-CNR expression by SlymiR157 affects tomato fruit ripening[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 7852.
- [51] SUN X, ZHENG H X, SUI N. Regulation mechanism of long non-coding RNA in plant response to stress[J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2018, 503(2): 402-407.
- [52] WANG H V, CHEKANOVA J A. Long noncoding RNAs in plants [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1008: 133-154.
- [53] LI R, FU D Q, ZHU B Z, et al. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of lncRNA1459 alters tomato fruit ripening[J]. *Plant J*, 2018, 94(3): 513-524.
- [54] GOU J Y, FELIPPES F F, LIU C J, et al. Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis by a miR156-targeted SPL transcription factor[J]. *Plant Cell*, 2011, 23(4): 1512-1522.
- [55] ZHANG G Y, CHEN D G, ZHANG T, et al. Transcriptomic and functional analyses unveil the role of long non-coding RNAs in anthocyanin biosynthesis during sea buckthorn fruit ripening [J]. *DNA Res*, 2018, 25(5): 465-476.
- [56] JIANG G X, LI Z W, SONG Y B, et al. Lc-NAC13 Physically interacts with LcR1MYB1 to coregulate anthocyanin biosynthesis-related genes during litchi fruit ripening[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(4): 135.
- [57] ZHENG N, SHABEK N. Ubiquitin ligases: Structure, function, and regulation[J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 129-157.
- [58] SHAN W, KUANG J F, WEI W, et al. MaXB3 modulates MaNAC2, MaACS1, and MaACO1 stabil-

- ity to repress ethylene biosynthesis during banana fruit ripening[J]. *Plant Physiol*, 2020, 184(2): 1153–1171.
- [59] WEI W, CHEN J Y, ZENG Z X, et al. The ubiquitin E3 ligase MaLUL2 is involved in high temperature-induced green ripening in banana fruit[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9386.
- [60] 王云飞. F-box 蛋白 SIAMR1 调控番茄抗坏血酸合成的机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- WANG Y F. Study on the mechanism of F-box protein SIAMR1 regulating the biosynthesis of ascorbate in tomato[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [61] AN J P, LIU X, LI H H, et al. Apple RING E3 ligase MdMIEL1 inhibits anthocyanin accumulation by ubiquitinating and degrading MdMYB1 protein[J]. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58(11): 1953–1962.
- [62] LI Y Y, MAO K, ZHAO C, et al. MdCOP1 ubiquitin E3 ligases interact with MdMYB1 to regulate light-induced anthocyanin biosynthesis and red fruit coloration in apple[J]. *Plant Physiol*, 2012, 160(2): 1011–1022.
- [63] NAEEM M, MUQARAB R, WASEEM M. The *Solanum melongena* COP1 delays fruit ripening and influences ethylene signaling in tomato[J]. *J Plant Physiol*, 2019, 240: 152997.
- [64] JI X L, LI H L, QIAO Z W, et al. The BTB-TAZ protein MdBT2 negatively regulates the drought stress response by interacting with the transcription factor MdNAC143 in apple[J]. *Plant Sci*, 2020, 301: 110689.
- [65] YU Y H, MENG X G, GUO D L, et al. Grapevine U-Box E3 ubiquitin ligase VIPUB38 negatively regulates fruit ripening by facilitating abscisic-aldehyde oxidase degradation[J]. *Plant Cell Physiol*, 2021, 61(12): 2043–2054.
- [66] KEVANY B M, TIEMAN D M, TAYLOR M G, et al. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit[J]. *Plant J*, 2007, 51(3): 458–467.
- [67] FU D Q, ZHU B Z, ZHU H L, et al. Virus-induced gene silencing in tomato fruit[J]. *Plant J*, 2005, 43(2): 299–308.
- [68] LIU D D, ZHOU L J, FANG M J, et al. Polycomb-group protein SIMS1 represses the expression of fruit-ripening genes to prolong shelf life in tomato[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31806.
- [69] HAN Y, DANG R H, LI J X, et al. Sucrose non-fermenting1-related protein kinase2.6, an ortholog of open stomata1, is a negative regulator of strawberry fruit development and ripening[J]. *Plant Physiol*, 2015, 167(3): 915–930.
- [70] LANG Z B, WANG Y H, TANG K, et al. Critical roles of DNA demethylation in the activation of ripening-induced genes and inhibition of ripening-repressed genes in tomato fruit[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(22): E4511–E4519.
- [71] CHENG J F, NIU Q F, ZHANG B, et al. Down-regulation of RdDM during strawberry fruit ripening[J]. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 212.
- [72] HUANG H, LIU R, NIU Q F, et al. Global increase in DNA methylation during orange fruit development and ripening[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(4): 1430–1436.
- [73] XIAO K, CHEN J, HE Q X M, et al. DNA methylation is involved in the regulation of pepper fruit ripening and interacts with phytohormones[J]. *J Exp Bot*, 2020, 71(6): 1928–1942.
- [74] DOSTAL H C, LEOPOLD A C. Gibberellin delays ripening of tomatoes[J]. *Science*, 1967, 158(3808): 1579–1580.
- [75] DAVIES C, BOSS P K, ROBINSON S P. Treatment of grape berries, a nonclimacteric fruit with a synthetic auxin, retards ripening and alters the expression of developmentally regulated genes[J]. *Plant Physiol*, 1997, 115(3): 1155–1161.
- [76] VALERO D, DÍAZ-MULA H M, ZAPATA P J, et al. Postharvest treatments with salicylic acid, acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry[J]. *J Agr Food Chem*, 2011, 59(10): 5483–5489.
- [77] ZE Y, GAO H J, LI T T, et al. Insights into the roles of melatonin in maintaining quality and extending shelf life of postharvest fruits[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 109: 569–578.
- [78] PALMA J M, FRESCHI L, RODRÍGUEZ-RUIZ M, et al. Nitric oxide in the physiology and quality of fleshy fruits[J]. *J Exp Bot*, 2019, 70(17): 4405–4417.
- [79] ALÓS E, CERCÓS M, RODRIGO M J, et al. Regulation of color break in citrus fruits. Changes in

pigment profiling and gene expression induced by gibberellins and nitrate, two ripening retardants[J]. J

Agric Food Chem, 2006, 54(13): 4888-4895.

## Research Progress on Negative Regulatory Factors of Fruit Ripening and Quality Formation

Xue Mao, Zhu Benzong\*, Wu Peiwen, Du Yinglin, Chu Yiyang, Zhang Ruijia

(China Agricultural University, College of Food Science & Nutritional Engineering, Beijing 100083)

**Abstract** Fruit ripening and quality formation is an important stage of plant fruits, which are regulated by many regulatory factors divided into positive regulatory factors and negative regulatory factors. In the past, the research on fruit ripening regulation mainly focused on the identification and functional analysis of positive regulatory factors, but now the negative regulatory factors related to fruit ripening have gradually attracted the attention of researchers. This review summarizes the negative regulatory factors related to fruit ripening and quality formation. According to the regulation mode to key genes related to ripening and quality formation, they can be divided into four categories including transcriptional repressors involved in transcriptional level regulation, negative regulatory factors involved in post transcriptional level, post-translational level regulation, and other negative regulatory factors, and we discuss and prospect the related follow-up research directions in this article.

**Keywords** fruit ripening; quality formation; negative regulatory factors