

高等植物花器官特异性基因研究

厉彩虹 邵宏波

(四平师范学院生物系)

生殖过程是高等植物生活史中最重要的阶段,它不是一个精子与卵细胞结合的简单过程。实际上它包括一系列复杂的生理生化变化。对被子植物来讲,还存在双受精这样一个更为复杂的过程。因此,作为这一生理过程的主要执行器官,花器官的生长发育就格外受到重视。早期花器官的研究主要以形态解剖及生理水平居多。随着分子生物学技术的发展,植物开花及受精过程的分子生物学研究已进入了新的阶段并已成为国内外植物分子生物学界的研究热点之一。

1 花器官早期发育调控

所有有花植物的花序均由营养型分生组织转化而来,而花的各个器官则由花分生组织分化而来。近几年来,通过对金鱼草和拟南芥等植物花发育突变体的研究,已取得了初步的答案。在两个相邻的花轮中,花轮特性基因的主要型相当于影响器官性质的基因。金鱼草或拟南芥野生型花种类有三个一致区域,每个区域含有两个相邻的花轮:A(花轮 1, 2)、B(花轮 2, 3)、C(花轮 3, 4)。金鱼草的 *uru* 突变和拟南芥的 *ap2* 突变型影响 A 区域,并在花轮 1 产生心皮代替萼片,在花轮 2 产生雄蕊代替花瓣,总的表型是:心皮、雄蕊、雄蕊、心皮。金鱼草 *def*、*glo* 突变和一些 *sep* 突变型及拟南芥中 *Pi* 及 *ap3* 突变型影响 B 区域,在花轮 2 产生萼片代替花瓣,在花轮 3 产生心皮代替雄蕊,总的表型是:萼片、萼片、心皮、心皮。金鱼草的 *Pleni* 突变和拟南芥的 *ag* 突变型影响 C 区域,在花轮 3 产生花瓣代替雄蕊,通常这些突变也影响花轮的数目,并在花轮 4 内产生额外的花瓣或萼片花轮。以上突变型的例子在其它物种也有研究,如报春花。另外, *LFY* 和 *FLO* 基因已分别从拟南芥和金鱼草中克隆出来并进行了序列分析。这两个基因属于同一类的同源转换基因,产物可控制未分化的花特性。在此基因发生突变的 *LFY* 和 *FLO* 突变体中,部分花的分生组织将分化为一、二级花序。

2 花瓣特异性基因调控

早期研究表明花瓣中表达的基因与叶片中表达的

基因非常类似,但由于花瓣与叶片最显著区别在于它们的颜色不同,因而研究主要集中在与色素形成相关的酶上。花瓣中花色素含量的增高或降低均可改变花的颜色。目前研究较多的色素基因为苯丙氨基裂解酶基因(*PLA* 基因)、查尔酮合成酶基因(*CHS* 基因)及查尔酮异构酶基因(*CHI* 基因),其中以 *CHS* 基因研究的最为深入。*CHS* 基因为多基因家族编码的酶。矮牵牛的 *CHS* 基因家族共有 12 个成员,其中只有两个成员(*CHSA* 和 *CHSJ*)能够在花中表达,尤其在花瓣和花药中表达。从矮牵牛特定发育阶段的花瓣和花药中 cDNA 中克隆到 *CHS* 基因上并正向插入到原核细胞表达载体和含有花椰菜花叶病毒(*CaMV*) 35S 启动子的真核细胞表达载体中,在原核细胞中得到高效表达,并通过土壤农杆菌介导的方法转化到矮牵牛中。转基因植物的花色由原来的紫色变成了白色或具有不同程度的紫色相间的花朵。在 *NPT II* 检测阳性的植物中,花色改变的频率达到了 100%。为进一步分析花色改变的原因,对花瓣中 *CHSA* 转录水平进行了检测。取对照及转基因植物相同发育阶段的花蕾(2~3cm,即将开放),从花瓣中提取总 RNA,以 α -³²P-dATP 标记的 *CHSA* 基因片段作探针进行 Northern 杂交,结果表明在转基因植物的白色及紫白相间的花瓣中,外源及内源 *CHSA* 基因的转录均受到抑制。另外,转基因植物的育性也受到了影响,不能产生正常花粉粒,成为雄性不育植物。

3 雄蕊特异性基因的调控

花粉结构简单,而遗传信息丰富。由若干植物花粉的 *POLY(A)* RNA 构造了 cDNA 文库和 cDNA 克隆,以此作为探针研究了相同基因不同发育中的表达情况。发现一部分基因的表达是在减数分裂结束后到小孢子分裂前;另一部分在小孢子分裂后到花粉成熟时。研究者从玉米中分离出两个雄蕊特异性基因:一个是 *Zmc13*,另一个是 *Zmc58*。*Zmc13* 的 mRNA 在成熟花粉和萌发过程的花粉管中大量积累,它编码一个分子量约 183KD 的带信号肽的蛋白。对 *Zmc13* 的 5' 端启动子进行分析时发现,在 314 到 +61 区域中两次

出现了 TGTGG 序列, 该序列与另两个花粉特异性基因(LTA59、LTA56)的关键序列极为相似。Zmc58 是花粉特异性基因, 它编码的蛋白质与果胶裂解酶有一定的氨基酸同源性。TWe11 等(1989)从瞬间表达和稳定表达转化两个水平上对 LAT52 和 LAT59 的 5' 启动子区域进行了研究。在 LAT52 基因的-72~+110 区域发现了三次 TGTGGTT 序列, 该序列与 LAT56 基因-66 外的一序列完全相同。另外, 在 LAT56 基因-10 处 GAATTTGTGA 与 LAT59 基因-114 处的序列 GAAATTGTGA 类似。若对 TGTGA 区域进行突变, 会影响它们在花粉中表达的水平。这些基因调控是通用的反式作用因子同特异性的反式作用因子一起与顺式作用元件作用, 达到调节基因表达目的。

4 雌蕊特异性基因调控

近年研究发现, 控制自交不亲和性的 S 基因是细胞特异性的表达, 其表达方式由寄主环境决定的。芸苔属植物中 S 基因只在柱头的乳突细胞中表达。这些基因转入烟草后, 就可以在整个引导组织中检测到表达(S13 在花柱引导组织区域及胚座外层细胞中都表达)。Gasser(1991、1993)研究小组从番茄中克隆了一系列雌蕊特异性基因。发现用 Northern 方法杂交的 RNA 量增大的话, 有很多基因在营养器官中也能检测到表达, 但表达水平比在雌蕊中要低得多。在这些基因中, 他们发现 9608 和 9617 两基因只在引导组织细胞的外周和珠被的内层表达, 另一基因 9612 则只在引导组织的外层表达。最近, Mariani 和 Clarke 研究小组还从烟草的雌蕊中分离到了编码一种富含脯氨酸的蛋白的基因。从此基因推测的氨基酸序列与伸展蛋白有较大的同源性, 但却没有此蛋白的功能。此基因只限在花柱的引导组织中大量表达且在花柱延伸和柱头成熟时表达量最大。其序列分析表明它编码具有一段分泌信号肽和具有 N 端糖基化的位点。研究还表明此蛋白不仅是被分泌到细胞外作为细胞壁上的成分, 还参与了花粉管与花柱之间的识别过程。

5 结论与展望

被子植物由营养生长过渡到生殖生长阶段及后续的花启动、花发育和性别分化的过程 不仅包含着形态发育的问题, 更重要的是包含性别分化的基因表达问题。高等植物花器官为解决上述问题提供了天然的实验系统。因而随着重组体 DNA 技术、单克隆抗体技术、激素测定技术、各种杂交技术及纯化技术的完善, 已有许多实验室的分子生物学家投入到这一领域。从本文叙述可见, 调控花器官特异性基因表达的元件主要分布于 5' 端启动子区域。在多数情况下, 该区域还可以使嵌合基因在异源植物种中正确地表达。花器官特异性基因的调控研究最终将使我们从分子水平上了解植物生殖的全过程, 为我们合理科学地保护及利用自然资源, 为人类造福奠定理论基础。(邮编 136000)

葡萄新品种——京玉、圆叶

杨国慧 王永贵 刘波

京玉和圆叶是 1990 年引入东北农大的两个品种, 经过多年的观察认为它们分别是优良的生食和酿造品种。现将几年的观察结果整理如下。

1 京玉 由北京植物园育成。植物学特征 嫩梢绿色带白色稀疏绒毛, 幼叶黄绿, 成龄叶绿色, 心脏形, 五裂, 上裂刻较深, 叶缘锯齿钝, 叶背无毛, 叶柄洼拱形, 叶柄中等长, 卷须间歇式, 两性花。果实性状 果穗特大, 圆锥形, 带副穗或歧肩, 平均穗重 690g, 最大穗重 1750g, 果穗紧密度中等, 果粒长圆形, 纵横径为 3.4×2.4cm, 平均粒重 6.2g, 果实黄绿色, 皮薄, 肉脆而细, 含种子 1~2 粒, 有的只含软核种子, 味酸甜适口, 可溶性固形物含量 15.5%, 含酸量 0.7%, 出汁率 40%, 品质上等。农业生物学特性 哈尔滨地区大棚栽植生长势强, 越冬表现良好, 露地栽植长势中等, 芽眼萌发率 45%, 抗病力中等, 丰产(见表), 棚架或篱架栽培, 少主蔓整枝, 中短梢修剪。物候期 哈尔滨地区大棚栽植 4 月 20 日萌芽, 5 月 30 日开花, 8 月中旬成熟。露地栽植 5 月中旬萌芽, 6 月中旬开花, 8 月下旬果实成熟。

2 纽约圆叶 来源于日本。植物学特征 嫩梢浅绿色密被绒毛, 幼叶黄绿色, 稍有酒红色, 成龄叶绿色, 近圆形, 中等大小, 3 裂, 裂刻浅, 叶缘锯齿较尖锐, 叶背绒毛多, 叶柄洼洼形或窄拱形, 叶柄短, 卷须间歇式, 两性花。果实性状 果穗圆锥形, 稍有副穗, 平均穗重 210g, 最大穗重 587.5g, 果粒圆形, 纵横径 1.37×1.38cm, 平均粒重 3.2g, 果粒着生紧密, 成熟均匀一致, 果皮厚, 有肉囊, 紫黑色, 具有浓郁的玫瑰香味, 含可溶性固形物 17.5%, 含酸 1.53%, 出汁率 55%, 一般每个果含种子 2~3 粒。农业生物学特性 树势中庸, 芽眼萌发率 56%, 抗病、抗寒, 一般在哈尔滨埋土 30cm 可安全越冬, 丰产, 篱架栽培, 扇形整枝, 中短梢修剪。物候期 哈尔滨地区 5 月中旬芽萌动, 6 月中下旬开花, 8 月末、9 月初果实成熟。

总评 京玉葡萄果实外形美观, 产量高, 果实成熟早, 生食口感好, 经济效益高, 在我省南部和西南地区可以大量发展露地栽培, 但需加强摘心等促进枝蔓成熟的管理措施, 在北部地区最好采用保护地栽培。纽约圆叶葡萄生长势中庸, 抗病、抗寒, 果实外形美观, 成熟期一致, 酸甜适口, 具有玫瑰香气, 非常适于酿酒或制汁, 亦可兼生食, 是我省一个很有前途的酿造葡萄品种。(东北农大园艺系, 八五农场自营经济办, 黑龙江省呼兰县呼兰镇政府)