

文章编号: 1001-411X(2002)02-0089-02

非洲菊苯基苯乙烯酮合成酶 *CHS* 基因表达模式的初步研究

张玉进, 孟祥春, 潘瑞炽, 王小菁

(华南师范大学生物系, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广东 广州 510631)

Primary Research on Chalcone Synthase Gene Expression During Corolla Development of *Gerbera hybrida*

ZHANG Yu-jin, MENG Xiang-chun, PAN Rui-chi, WANG Xiao-jing

(Department of Biology, South China Normal University, Guangdong Key Lab. of Technology for Plant Development, Guangzhou 510631, China)

关键词: 非洲菊; 花冠; 花色素苷; *CHS* 基因; 基因表达

Key words: *Gerbera hybrida*; corolla; *CHS* gene; anthocyanin; gene expression

中图分类号: Q945

文献标识码: A

苯基苯乙烯酮合成酶(chalcone synthase, CHS)是植物体内花色素苷等类黄酮化合物生物合成途径中的一个关键酶。有关该酶特性及其基因表达调控在花发育过程中已有一些研究,大多集中于矮牵牛、金鱼草等模式植物^[1],而对非洲菊等具有较高观赏价值的花卉研究较少。非洲菊花序结构复杂,是研究花发育、花色素苷合成及花色素苷基因表达调控的理想材料。非洲菊的头状花序可分为 3 种类型的花,其最外层花(ray florets, Rf)大且色泽鲜艳。本研究以非洲菊 Rf 为试材,提取不同发育时期 Rf 的总 RNA,通过测定花色素苷含量的动态变化和 Northern 杂交,研究非洲菊花序发育与花色形成、花色素苷合成酶 *CHS* 基因表达之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料非洲菊(*Gerbera hybrida*)购自珠海市园艺研究所,在华南师范大学生物园大棚常规栽培。取花序发育的不同时期的 Rf 作为试验材料。携带非洲菊 *CHS* 基因的质粒 pCGC 由芬兰 Elomaa 博士惠赠。植物组织总 RNA 提取试剂盒 RNeasy Plant Mini Kit 为 QIAGEN 公司产品,³²P-dCTP 购自北京亚辉生物工程公司, DNA 探针标记试剂盒 Random Primer

DNA Labeling System Kit 为 Promega 公司产品。其他试剂购自上海生物工程公司。

1.2 Northern 杂交

利用 RNeasy Plant Mini Kit 提取 Rf 的总 RNA, 碱裂解法提取携带非洲菊 *CHS* 基因的质粒 DNA^[2], 经限制性酶 *Bam*H I 酶切, 低熔点琼脂糖法回收^[2]。以 *CHS* 基因 cDNA 为模板, 随机引物法合成放射性 DNA 探针^[3], 探针分别与红、黄色非洲菊 Rf 中的总 RNA 进行 Northern 杂交^[3]。

1.3 花色素苷含量的测定

花色素苷含量的测定参见文献^[4], 稍作改动。材料冰浴中研磨后, 用含 $\varphi=1\%$ 盐酸的甲醇在室温下浸提 3 次, 合并各次提取液后, 定容至 25 mL, 在 530 nm 处测光密度值(D)。以 $D_{530\text{nm}}=1.0$ 为一个花色素苷含量单位(U), 花色素苷含量以每克鲜质量中含的 $U(U/g)$ 来表示, 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 非洲菊花发育时期的划分

非洲菊可以周年开花[在大棚内, 温度(25±2)℃], 从可见的花苞到花完全开放大约需 15 d。根据花冠大小、外轮花瓣着色与花序展开状况等形态特征, 把非洲菊花发育的整个过程分为 5 个时期(表 1)。

表 1 非洲菊花发育时期的划分

Tab. 1 Classification of corolla developmental phases of *Gerbera hybrida*

项目 item	发育时期 developmental phases				
	P1	P2	P3	P4	P5
花盘直径 corolla diameter/cm	0.5~1.0	1.0~1.5	2.0~3.0	3.0~5.0	5.0~7.0
主要特征 main characters	Rf 与苞片 等长	Rf 长于苞片 0.3 ~0.5 cm, 花尖 部开始着色	Rf 长于苞片 0.5 ~1.0 cm, 花上 部开始着色	花序半开放, Rf 与花序轴 平行	花序完全 开放

收稿日期: 2001-09-10

作者简介: 张玉进(1965-), 男, 博士, 现在河南职业技术学院农学系工作。

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(994211, 980035, 003062)

2.2 非洲菊花发育过程中 Rf 花色苷含量的动态变化

如图1, 红色和黄色非洲菊 Rf 中花色苷含量的动态变化并不完全相同. 黄色非洲菊 Rf 中花色苷含量随着花的发育不断升高, 至花完全开放时(P5)达到最高, 这与矮牵牛等花序发育过程中花色苷的积累模式相似^[5]; 红色非洲菊 Rf 中花色苷含量从 P1 至 P4 逐渐增加, P4 达最高, 而在花完全开放时降低. 红色非洲菊 Rf 中花色苷含量的动态变化与高等植物中红色花的色调变化趋势一致, 而红色的主要体现者是花色苷^[6]. 由图1 还可知, 在花发育的各个时期, 2 种颜色非洲菊 Rf 中花色苷含量差别较大, 红色花花色苷的含量是黄色的 10 倍左右.

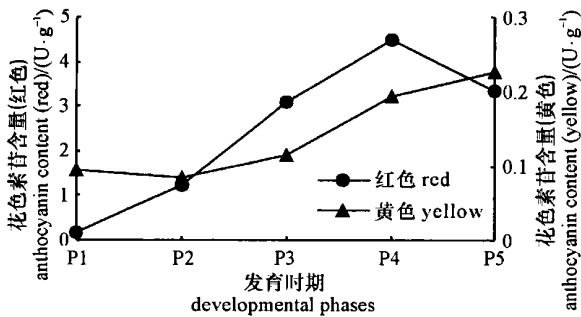


图1 非洲菊发育过程中 Rf 花色苷含量的变化

Fig. 1 Changes of anthocyanin content in Rf of *Gerbera hybrida* during corolla development

2.3 非洲菊花发育过程中 CHS 基因表达的动态变化

如图2A, 随着花序的发育, 黄色 Rf 中 CHS 基因在 1 期表达量最少, 之后逐渐增加, 在 3 和 4 期表达量最大, 至花完全开放时(5 期)表达量趋于降低. 这一动态变化趋势与 Rf 中花色苷含量变化趋势基本一致, 也与花器官 S 型生长发育曲线相一致, 说明 CHS 基因表达及花色苷的合成受花序发育时期的调节^[7]. 而红色非洲菊 Rf 中 CHS 基因的表达在花序发育的各时期变化不大, 仅 4 期的表达量较少(图2B), 这与

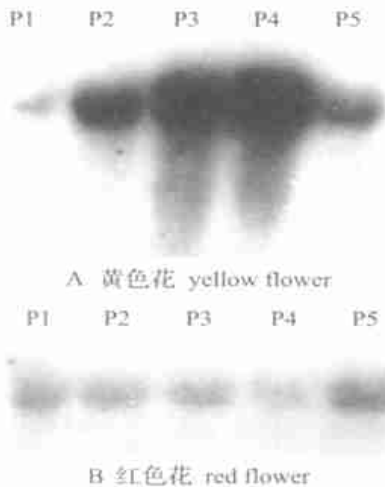


图2 非洲菊发育过程中 Rf 中 CHS 基因的表达变化

Fig. 2 Changes of expression of CHS gene in Rf of *Gerbera hybrida* during corolla development

Rf 中花色苷含量的变化趋势不一致, 说明 CHS 基因表达量的多少可能不是红色形成的关键因素, 而由其他花色苷合成酶基因的表达来决定.

3 讨论

Rf 中花色苷基因的表达引起花色苷的合成和花色的产生. 不同颜色非洲菊在花序发育过程中形成并积累不同种类的花色苷, 从而呈现不同的颜色^[7]. 黄色非洲菊 Rf 中 CHS 基因的表达模式与花色苷含量的变化趋势相似, 说明非洲菊形成黄色花的过程中 CHS 基因的表达是一个关键的因素. 因此, 可以用花色苷含量的变化间接反映 CHS 基因表达的变化. 本试验还表明, 不同颜色非洲菊 Rf 中 CHS 基因表达的情况不同. 红色非洲菊 CHS 基因在花发育过程中的表达量变化不大, 与花色苷含量的变化趋势不一致, 无法用花色苷含量的变化说明 CHS 基因表达的情况. 花冠着色可能是花发育过程中一个不可缺少的环节^[8]. 非洲菊 Rf 中花色苷含量基本上随着花的发育而不断增加. 说明花色苷的形成和积累与花序的生长发育之间有密切关系, 值得进一步研究.

致谢: 日本大阪市立大学植松千代美博士和神户大学片山宽则, 芬兰 Helsinki 大学 Elomaa 学者及华南农业大学生物技术学院张群宇老师在试验过程中都给予了众多方便和指导, 特此致谢!

参考文献:

- [1] 许智宏, 刘春明. 植物发育的分子机理[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 108—115.
- [2] 萨姆布鲁克, 弗里齐, 曼里阿蒂斯. 分子克隆实验指南[M]. 第2版. 金冬雁, 黎孟枫等译. 北京: 科学出版社, 1992. 352—354.
- [3] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 135—148.
- [4] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990. 183—191.
- [5] SHAVARTIS M, BOROCHOV A, WEISS D. Low temperature enhance *Petunia* flower pigmentation and induces chalcone synthase gene expression[J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 99: 67—72.
- [6] 安田齐. 花色的生理生物化学[M]. 傅玉兰, 译. 北京: 中国林业出版社, 1989. 68—100.
- [7] HELARIUTTA Y, ELOMAA P, KOTILAINEN M, et al. Chalcone synthase-like genes active during corolla development are differentially expressed and encode enzymes with different catalytic properties in *Gerbera hybrida* (Asteraceae) [J]. *Plant Molecular Biology*, 1995, 28: 47—60.
- [8] WEISS D, HALEVY A H. Stamens and gibberellin in the regulation of corolla pigmentation and growth in *Petunia hybrida* [J]. *Planta*, 1989, 179: 89—96.

【责任编辑 柴 焰】