

- [19] Wang, X. Y. et al., 1998, *Protoplasma*, **204** (3-4): 128-138.
- [20] 张伟成等, 1985, 中国科学(B辑), **28**: 1175-1183.
- [21] 李明义等, 1986, 植物学报, **38**(2): 105-108.
- [22] Delesen, P. et al., 1990, *Protoplasma*, **151**: 151-160.
- [23] 张伟成等, 1988, 植物学报, **30**(5): 457-462.
- [24] Zhang, W. C. et al., 1990, *Protoplasma*, **1153**: 193-203.
- [25] Zheng, G. C. et al., 1987, *Caryologia*, **40** (3): 243-259.
- [26] Jackson, D. et al., 1997, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **7**(4): 495-500.
- [27] Lucas, W. J. et al., 1995, *Science*, **270**(5244): 1980-1983.
- [28] Volk, G. M. et al., 1992, *Planta*, **199**: 425-432.
- [29] Verbeke, J. A., 1992, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **45**: 583-598.
- [30] van der Schoot, C. et al., 1995, *Planta*, **195**: 450-455.
- [31] Trobner, W. et al., 1992, *EMBO J.*, **13**: 4693-4704.
- [32] Perbal, M. C. et al., 1996, *Development*, **122**(11): 3433-3441.
- [33] Mezitt, L. A. et al., 1996, *Plant Mol. Biol.*, **32**: 251-273.
- [34] Richard, A. J. et al., 1998, *Science*, **79**: 1486-1487.
- [35] Bostwick, D. E. et al., 1992, *Plant Cell*, **4**: 1539-1548.
- [36] Clark, A. M. et al., 1997, *Planta*, **201**: 405-414.
- [37] Dannenhoffer, J. M. et al., 1997, *Plant J.*, **12**: 49-61.
- [38] Kuhn, C. et al., 1997, *Science*, **275**(5304): 1298-1300.
- [39] Robards, A. W. et al., 1990, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **41**: 369-419.
- [40] Itaya, A. et al., 1997, *Plant J.*, **12**(5): 1223-1230.

不定根的形态发生与调节机制

李小方 汤章城 何玉科

(中国科学院上海植物生理生态研究所 上海 200032)

植物的根有两种,一种是来源于胚的胚生根(Embryotic root),它是植株形成强大根系的基础;另一种是不定根(Adventitious root),它不按正常时序发生,且出现在非正常的位置(如茎、叶)。大多数情况下,不定根的发生是由于植物器官受伤或激素、病原微生物等外界因素的刺激,因此表现为植物的再生反应。

不定根的发生扩大了植物的根系,使植物和细胞具有了再生能力,在植物器官扦插和组织培养中广泛使用,因此,不定根发生的生物学研究是发育生物学的重要领域,它不仅有助于阐明调节植物生长发育的机制,而且会促进许多优良品种的营养繁殖,对农、林与园艺业的发展具有不可估量的价值。

19世纪开始,人们一直试图寻找特异性的不定根形成物质。30年代,发现生长素能促进不定根形成,认为是形成根的激素。随后大量

的研究均围绕着生长素及其代谢与不定根发生之间的关系。尽管有无数的研究证明生长素对多种植物的不定根形成有关键作用,但对于一些物种,尤其长年生木本植物,用生长素处理并不能使之产生不定根,因此生长素并不是不定根形成的唯一的决定者。于是人们对不定根发生过程中的非生长素的生化及分子标志作了相当的研究,也有研究者从组织解剖结构上来探索控制不定根发生的机制。近年来,随着分子生物学与基因工程的飞速发展,在基因水平上已开始探讨不定根的形成,并且前景令人看好。

一、生长素、生长素代谢 与不定根发生

不定根的发生从根原基的分化开始。不定根的原基分为三类,即形成于原位(*in situ*)的根原基,向着插条基部但在原初细胞分裂

点处形成的根原基和形成于基部愈伤组织的根原基。在后两种情况下,根发生的最初解剖学事件之前需要细胞分裂。根原基发生于原位的情况,已经定义为4个明显的阶段:①新的分生组织位置的诱导;②最初的细胞分裂;③后期细胞分裂形成有组织的根原基(分生组织);④通过分生组织产生细胞并进行伸长生长完成根的发[1,2]。

在外植体培养中,新的分生组织位置最早的可见信号是单一细胞的膨大,同时伴随细胞核的急剧膨胀和浓密细胞质的形成[2,3]。在这些细胞和分子事件之前的一段时间内,植物组织内生长素的生物合成、代谢和分布有明显变化,因此可以认为生长素在不定根发生的每一阶段中都有重要的调节作用。

1. 内源生长素的分析

测定内源生长素早期的工作大部分是用生物测定法,结果出现了互相矛盾的结果。例如,许多植物存在易生根与难生根的外植体,但两者之间在生长素水平上并无差异,但在另一些物种的外植体中生长素水平与易生根性却呈正相关。

对不定根发生过程中内源生长素水平变化的研究可知,生长6天的绿豆(*Phaseolus aureus*)下胚轴不定根的发生相当迅速,第一个细胞分裂发生在30小时内,60小时内可见到发育完整的根原基,100小时后根出现。在外植体切割的几小时内该部位 IAA 增加,在第一个细胞分裂之前又下降,而下胚轴上邻近不定根发生的部位没有 IAA 水平的上升[4]。这些结果说明,在该系统中,短暂的 IAA 升高与不定根发生的诱导阶段相联系,生长素下降又与最早的细胞学变化相联系,但没有证明 IAA 水平的这种升高与下降是不定根发生的原因。后来的研究都表明不定根根原基的诱导与 IAA 水平的升高同时发生,IAA 水平的下降与早期的细胞分裂和根原基的组建有关[5]。

用发根农杆菌转化的大豆上胚轴,愈伤组织与随之的根形成依赖于 T_{Raux} 基因表达积

累的内源 IAA,并与吲哚-3-乙酰胺积累同时发生[6]。这是首次分析含有 $T_{RDNA aux}$ 基因的农杆菌所介导的转基因植物组织内的内源 IAA。用同样方法转化的大白菜、花椰菜和甘蓝的下胚轴,其不定根发生可随内源 IAA 的积累而在形态学上下端都发根[7],这说明 IAA 的确参与了不定根的发生过程。

2. 生长素代谢

前面所讨论的均是植物组织内的自由 IAA, IAA 在植物组织中也以结合形式存在,它通过羧基基团与氨基酸(AA)或糖/肌醇等酯脂连接。IAA 的结合与水解是调节植物组织内 IAA 水平的重要代谢。当外源生长素处理后,植物组织会表现出很强的累积结合型生长素的能力[8]。

一些研究者指出生长素的结合物可调节不定根的发生。在一年的不同时间取木本植物黄栌(*Cotinus coggygria*)的枝条来扦插,尽管在不同取样时间所取的插条内总 IAA 相同,但在幼嫩枝中自由 IAA 与总 IAA 含量之比为0.94,而在老枝中二者比为0.02,后者不发根[9]。Nordstrom 等研究了发根阶段大豆插条中结合型 IAA 的含量,发现在生根区有结合型吲哚乙酸(IAA_{sp})的增加,推测它能阻止自由 IAA 的增加。在生根培养基中加 IAA_{sp} 并不能刺激发根[8],这说明一旦内源 IAA(或 IBA)结合为 IAA_{sp},就不能刺激不定根发生。

植物组织中也对 IAA 进行不脱羧基的降解和氧化。IAA 的氧化性分解是由不同的过氧化物酶(POD)催化[10]。分布在羽扇豆韧皮薄壁细胞质中的碱性 POD 同功酶很明显参与 IAA 的极性运输[11]。对 IAA 分解实际作用及多样性仍不清楚。

有研究表明,外植体在切割最初几小时内有一短暂的 POD 水平下降,这种下降与发根区 IAA 水平的短暂升高一致。在根发生发育过程中,POD 水平随之升高[5,12]。这些结果支持了前面提到的 IAA 水平的初期升高在根发生过程中十分重要,但低水平的 IAA 才能使根原基

得以发育。

基于现在的研究结果可知,生长素的绝对水平对刺激根发生的最初事件十分重要,IAA水平的升高是诱导最初细胞分裂之前根发生解剖学和生化事件所必须的。

3. 转基因植物组织的证据与敏感性

发根农杆菌 *A. rhizogenes* 是以刺激植物组织使其不定根发育过分活跃为特征的。在这种致病菌株中,染色体外的大质体——Ri 质粒中含有一小段 DNA(T-DNA),可以转移、整合,并在植物基因组中表达。Ri T-DNA 的表达导致接种位点处不定根大量增生。已鉴别出四个基因位点(*rolA*、*rolB*、*rolC*、*rolD*)^[13]。因为这些质粒含有编码植物生长物质生物合成的基因,比较 *A. rhizogenes* 的转化与非转化细胞,很明显 Ri T-DNA 提高了转化细胞对生长素的敏感性。推测转化细胞对生长素敏感性的提高是早期的细胞学变化,可能有激素信号的接受与传导参与^[14]。研究表明转化质粒的单一基因 *rolA*、*rolB*、*rolC* 都能提高对生长素的敏感性,*rolB* 是最有效的。*rolB* 基因编码一种酶,该酶水解吲哚- β -葡萄糖苷,但该酶的底物并非生长素。推测由 *rolB* 基因所负责的生长素敏感性可能决定转化细胞进行根分化^[13]。

4. 生长素结合蛋白

在无数的植物对生长素的生理反应中,天然或合成生长素均要求专一的结构和功能,这说明反应第一步必定是生长素与一蛋白质相互作用,这样的蛋白质被定义为生长素结合蛋白。基于放射性标记生长素对膜的结合已鉴别出生长素结合蛋白的三个结合位点:内质网膜(ER; site I)、液泡膜(site II)和原生质膜(site III)^[15]。

拟南芥中有一类受生长素介导的形态发育突变体,其基因突变影响生长素的运输,如 *AUX1* 编码生长素的摄取载体蛋白,而 *EIR1* 编码生长素的外运蛋白^[16-18]。还不清楚生长素结合蛋白是直接与 H-ATase 作用,还是和哺乳动物或酵母细胞中的信号接受系统类似。

可以预见的是对编码 *abps* 基因的研究来进一步理解生长素的感受系统,尤其是这种激素是如何与细胞信号转导机制联系起来的将有助于阐明生长素诱导的不定根发生的调控机理。

二、解剖学原因

从 20 世纪前半期开始,就有许多不定根发生的细胞学、解剖学的研究,以期阐明解剖结构特点与不定根发生能力之间的关系,Priestley 等定名为“解剖学原因”^[19]。

一般认为根原基的定位是受“内部规律”决定的。Priestley and Swingle^[19]对发育的细胞学、组织解剖学进行了研究,认为极性没有解剖结构基础,但细胞的发育进程如形成或不形成根原基则是由它们在植物中的相对位置决定的。Annie Hartsema 对不定根、芽的发生作了细致的细胞、组织观察,并与 19 世纪、20 世纪初期的一些相关研究作比较,发现根原基在纤维束的韧皮薄壁细胞附近形成。她详细地描述了在受伤叶中形成根的细胞与非形成根的细胞的复杂的原生质流动、核运动和有丝分裂。指出受伤刺激沿着伤口向上,在韧皮部中产生两种反应:初级反应是触发紧邻受伤处的细胞的分裂;次级反应是触发距伤口一段距离、接近韧皮部中形成根原基的薄壁细胞的分裂^[20]。

植物组织以一特定方式对诱导刺激或信号反应的能力被定义为感受性^[21]。在大多数常青木本植物中,成熟期枝条和幼嫩枝条相比,形成不定根的感受性会下降或失去^[22]。无外源生长素时,去叶的常春藤成熟期叶柄与幼嫩期叶柄都观察不到细胞分裂。用放射性生长素处理,两个时期的叶柄中生长素的分布与数目是相同的,但仅幼嫩期叶柄能形成不定根。显微观察表明,在生长素处理前,除了成熟叶柄中多数目的韧皮纤维之外,两个时期的组织结构相同。在生长素处理第 6 天,两个时期的叶柄中,可观察到在维管束外边且邻近维管束的导管上皮细胞开始分裂。处理第 9 天,可观察到幼嫩叶柄中韧皮薄壁细胞和邻近维管束的中柱

薄壁细胞的定向分裂,这些定向的细胞分裂导致在处理第12天形成根原基。相反,在成熟叶柄中,紧接着导管上皮细胞的分裂是韧皮细胞和整个中柱细胞的分裂。这种缺乏定位的细胞分裂和中柱内分裂相的随机性不能形成有组织的分生区或根^[23]。

尽管成熟组织的不定根发生的感受性下降是稳定存在的,但可通过一定的途径改变这种感受性。在生长的早期阶段,对枝条的顶端或腋生芽进行遮光处理,对该种枝条生根感受性有显著效应。该感受性对接下来的处理可维持几周几个月。那么暗处理与光下生长的组织之间发根感受性不同的基础是什么呢?研究表明遮光导致细胞壁厚度下降(也即减少纤维素、半纤维素的沉积)和韧皮部和中柱鞘纤维的木质化程度降低,并且大部分细胞存在于薄壁细胞中^[24]。还不清楚任何除去光的持续作用在随后的光处理下对外植体解剖结构有何影响。

三、不定根发生的非生长素 生化和分子标志

不定根发生过程中一个关键时期是根原基的形成,它包括诱导细胞的脱分化、细胞分裂以及扩大形成分生组织、从根原基上再产生根并生长。有发根感受性的细胞能直接对诱导刺激(通常是受伤或生长素处理)反应产生根原基,没有感受性的细胞不能对刺激起反应,这说明生长素对不定根的形成不是唯一决定者,还有许多其他因子参与。

1. 不定根发生的生化标志

除了生长素,对不定根发生的生化标志研究较多的是多胺、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和类黄酮(Flavonoids),尤其是前两者。有许多研究表明高胺水平与细胞分裂、根原基的形成有一定关系。与生根相联系的POD同功酶变化和活性的研究,常与生长素氧化相联系。POD可能参与根发生时IAA的代谢、细胞壁形成、木质部细胞的发育^[12]。由于生长素生理作用还远没有搞清楚,POD作为生

化标志就显得意义不大。

2. 分子标志

尽管过去的许多研究是集中于不定根形成过程中的生理生化变化,但对控制其形成的分子机制方面的信息还相当有限。近年来对不定根和侧根形成中生长素诱导基因的表达及相关的分子事件作了广泛的研究,已分离鉴别出一些与不定根原基发生有关的基因和蛋白质,如富含脯氨酸(PR)基因、根原基中表达的LRP1基因等。

PRP基因是从长春藤的叶柄中分离到的,它在幼嫩叶柄、半成熟叶柄和成熟叶柄中的表达水平有明显差异。核酸序列分析表明,PRP基因与大豆、豌豆和胡萝卜细胞壁中富含脯氨酸的蛋白质的基因同源,其mRNA的表达受伤刺激诱导,且与组织的发根感受性呈负相关^[25]。PRP基因在具有发根潜力的细胞中优势表达,这些细胞指生长素处理和发生细胞分裂的部位^[26]。在半成熟叶柄发生根的特定细胞中,生长素处理抑制PRP基因的表达,这和该基因与发根感受性呈负相关一致。但是在成熟叶柄中,生长素处理对PRP基因的表达没有影响。结果说明PRP在同一组织中的表达受发育时期的影响,其原因可能是,幼嫩叶柄中能再分化形成根的细胞却不能高水平表达PRP,相反,成熟叶柄中的细胞已发育到不能再分化形成根但能高水平表达PRP。半成熟叶柄中可能含有没完全达到成熟阶段的细胞,生长素能扭转它们成为幼嫩期的原生质,并使PRP基因mRNA水平降低。因此可以把PRP基因的mRNA水平看作是根发生过程中原生质变化的分子标志,但还不确定它是控制根发生的原因还是改变了发育感受性的结果。

运用分子生物学和基因工程的方法已分离和克隆出许多与根原基发生有关的基因。HRGPnt3基因是调节细胞周期的,它在烟草形成不定根和鱼塘侧根原基的第一个细胞分裂之后迅速表达^[27];LRP1基因在Arabidopsis不定根根原基发生的早期活跃,而在根出现之

前关闭,可见 LRP1 是研究不定根根原基发生的早期分子标志^[28];豇豆下胚轴不定根形成中两个 cDNAs: *MII-3*、*MII-4* 在生长素处理的下胚轴中表达量很高,而在对照中却不表达。随着 IAA 浓度的升高,发根率与两基因的表达呈正相关。有关它们是否直接参与调控不定根的发生还有待进一步研究^[29]。另外 *Arabidopsis* 中与细胞周期有关的 *cdc2*、*cdc2a* 基因的转录产物 RNA 在根原基以及侧根发生处新形成的分生组织初始阶段累积,其表达可能是分生组织活动的调节元素。对向日葵下胚轴不定根根原基发生过程中基因表达水平研究表明:根发生时,基因表达发生改变,有 50 种新的蛋白质出现,10 种蛋白质的表达量增加,而且基因表达的改变也反映在整个 RNA 水平的变化^[30]。分离和鉴别参与不定根发生的 cDNA 序列是今后的研究方向。

近年来,对拟南芥突变体的遗传分析表明,与生长素介导的形态发育突变体至少有三类:一类突变基因是参与激活与泛素蛋白(ubiquitin)相关的蛋白质(Rub,如 *axr1*),或是该过程的下游因子 *tir1* 和 *sar1*^[31,32];第二类突变即前面谈到的影响生长素的运输;第三类突变基因是生长素诱导基因或调节这些基因的转录因子,如 *axr3* 和 *monopteros*。拟南芥中生长素诱导基因(*Arx/IAA*)家族至少有 20 个,这类基因编码的蛋白质包含四个保守的结构域,结构域 III 可形成 $\beta\alpha\alpha$ 结构,与一些原核阻遏蛋白的 DNA 结合结构域相似。但还没有证据表明 IAA 蛋白与 DNA 直接结合^[33]。*AXR3/IAA17* 的突变可提高不定根的形成^[34],*SHY2/IAA3* 的突变可刺激侧根的发生^[35]。生长素反应因子(ARF)是转录因子,可以结合在生长素调节基因启动子中调节因子上^[36,37]。目前还未发现这类基因的突变影响根的发生。但随着这方面研究的不断深入,必将有利于阐明生长素对植物发育包括不定根的发生的调控机理。

四、小 结

从对不定根发生的研究历史来看,生长素的确可以诱导许多植物外植体不定根发生。受到诱导刺激时,一些靠近韧皮部薄壁的细胞发生定向的细胞分裂形成与初生根根原基相似的不定根根原基。生长素在不定根的诱导阶段是必须的,但是对随后根原基及根的发育并没有直接的作用。不同物种或不同组织发根感受性不同,并且只有很少一部分细胞能分化发生不定根,这不仅受到组织解剖结构限制,还可能与细胞膜上受体分布不同有关。

不定根、侧根和初生根在组织结构上几乎相同,因此推测在它们的发生过程中有相同的分子变化过程。已经表明,侧根与初生根(胚生根)在形成过程中启动的是同一个分子程序,如突变体 *rm11* 和 *rm12* 丧失这两种根的原基活性。不定根与侧根尤其诱导性侧根的发生过程非常相似,二者都经过根原基位置的诱导,特定细胞的分裂、根原基的形成、根的发育这一过程。二者都受生长素的诱导,且诱导的原始细胞都位于中柱内。但是两者的发生过程也存在差异,如拟南芥的 *alf4* 和玉米的 *rtcs* 突变体仅缺失侧根^[38]。侧根根原基在大约 3-5 层细胞前受生长素限制,在这之后则可在无激素培养基上自主发育成根^[39]。不定根根原基的诱导与局部 IAA 水平的升高同时发生,早期的细胞分裂和根原基的组建则伴随 IAA 水平的下降^[10]。目前对侧根发生的研究非常多,在拟南芥中已经得到在根的特定细胞类型中特异性表达 *GUS* 的一系列转基因株系(增强子陷阱与启动子-*GUS* 组成融合基因来转化),利用这些标记株系已经对侧根根原基发生过程中细胞的命运及分化状态作了深入研究^[40]。另外,侧根作为整个植物根系的组成成分,不仅可以用胚胎发育学方法,也常可借助突变体来研究。相比之下,研究不定根发生的方法就比较有限,即常规的组织解剖学方法,生理生化分析,利用差减杂交或差异显示来分析特异表达的基因。

总的来讲,对不定根发生的调控机制的认识仍是相当少,有些研究结果具有片面性。尤其对生长素不能诱导根发生的情况下,根发生可能存在其他的调控点。根发生是一复杂的发育过程,可以假定在该过程中有多个位点调控,那么调控因子或限制因子随物种或发育阶段的变化而不同。要解决这些问题,就要对根发生过程作详细的分析。把现代组织解剖显微技术与生化分析技术结合起来,同时借鉴侧根的研究方法,首先搞清楚什么时候组织对生长素有感受性,什么时候细胞不可逆地趋向根形态发生。如果组织对生长素无发根感受性,是什么形态发生过程限制了根发生?由于不定根、侧根和初生根组织结构的相似性,在确定不定根发生的相关分子机制时,也可在侧根与初生根所取得的进展基础上来研究,或利用分子生物学技术研究不定根发生过程中的同源基因。目前研究发根农杆菌的有关基因(*aux* 和 *rol*)以及它们与植物基因的相互作用,有可能帮助找到与不定根发生的有关基因。PCR 技术的飞速发展,可以用来从形成根原基较少数量的细胞中得到一定的生化信息,确定目的基因的发根功能及表达方式。此外,植物基因表达调节序列方面知识的迅速增加也将加深对发根机理的认识。

参 考 文 献

- [1] Dore, J., 1965, *Encyc. of Plant Physiol.*, W. Ruhland, ed., Springer-Verlag, Berlin.
- [2] Smith, D. R., and T. A. Thorpe, 1975, *J. Exp. Bot.*, **26**:184-192.
- [3] Oppenorth, J. M., 1979, *Physiol. Plant.*, **47**:134-138.
- [4] Blakesley, D., G. F. Hall, et al., 1985, Abst. 12th Int. Conf. Plant Growth Subs., Heidelberg.
- [5] Gaspar, T., C. Moncousin, and Greppin, H., 1990, *Intracellular Communications in Plants*, B. Miller and H. Greppin, eds, INRA, Paris.
- [6] Prinsin, E., Bercetche, et al., 1992, *J. Plant Physiol.*, **140**:75-83.
- [7] He Y. K., Wang J. Y., Gong Z. H., et al., 1994, *Plant Physiol. Biochem.*, **32**(4):493-500.
- [8] Nordstrom, A. C., and L. Eliasson, 1991, *Physiol. Plant.*, **82**:599-605.
- [9] Blakesley, D., G. D. Weston, and M. C. Elliott, 1991a, *Plant Growth Reg.*, **10**:1-14.
- [10] Blakesley D., 1994, *Biology of Adventitious Root Formation*, Edited by T. D. Davis and B. E. Haissig, P;enum Press, New York. pp. 146.
- [11] Ros Barcelo, A., M. A. Pedreno, et al., 1990, *Planta.*, **181**:448-450.
- [12] Garcia-gomez, M. L., C. Sanchez-Romero, et al., 1995, *Can. J. Bot.*, **73**:1522-1526.
- [13] Maurel, C., H. Barbier-Brygoo, et al., 1991, *Advances in Mol. Genet. of Plant-Microbe Interactions*, vol. 1, H. Hennecke, and D. P. S. Verma, eds., Kluwer Academic Pubs., Dordrecht.
- [14] Ryder, M. H., M. E. Tate, and A. Derr, 1985, *Plant Physiol.*, **77**:215-221.
- [15] Jones, A. M., and Prasad, P. V., 1991, *BioEssays*, **14**:43-48.
- [16] Bennett, M. J., A. Marchant, H. G. Green, et al., 1996, *Science*, **273**:948-950.
- [17] Luschig, C., R. A. Gaxiola, P. Grisafi, et al., 1998, *Dev.*, **12**:2175-2187.
- [18] Yamamoto, M. and K. T. Yamamoto, 1998, *Plant Cell Physiol.*, **39**:660-664.
- [19] Priestley, J. H., and C. F. Swingle, 1929, "Vegetative Propagation from the Standpoint of Plant Anatomy," U.S. Dept. Agric. Tech. Bul. 1. No. 151.
- [20] Bruce E. Haissig and Tim D. Davis, 1994, *Biology of Adventitious Root Formation*, Edited by T. D. Davis and B. E. Haissig, P;enum Press, New York.
- [21] Mc Daniel, C., 1982, *Positional Controls in Plant Development*, P. Barlow, and D. J. Carr, eds., Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- [22] Geneve, R. L., 1985, Ph. D. Thesis, Univ. of Minn., St. Paul.
- [23] Geneve, R. L., W. P. Hackett, and B. T. Swanson, 1988, *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.*, **113**:630-635.
- [24] Doud, S. L., and R. F. Carlson, 1977, *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.*, **102**:487-491.
- [25] Woo, H.-H., W. P. Hackett, and A. Das, 1994, *Physiol. Plant.*, **92**:69-78.
- [26] Sanchez, M. C., Alan G. Smith and W. P. Hackett, 1995, *Physiologia Plantarum*, **93**:207-216.
- [27] Vera, P., C. Lamb, and P. W. Doerner, 1994, *Plant J.*, **6**:717-727.
- [28] Smith D. L. and N. V. Fedoroff 1995, *American Society of Plant Physiologists*, **7**:735-745.
- [29] Chen J., Wu D., F. H. Witham et al., 1996, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **121**(3):393-398.
- [30] Oliver M. J., I Mukherjee, and D. M. Reid 1994, *Physiologia Plantarum*, **90**:481-489.
- [31] del Pozo, J. C., C. Timpte, et al., 1998, *Science*,

- 280:1760-1763.
- [32] Ruegger, M. E. Dewey, et al., 1998, *Genes Dev.*, **12**:198-207.
- [33] Abel, S., Oeller, P. W. et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**:326-330.
- [34] Kim, J., K. Harter, and A. Theologis, 1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**:11786-11791.
- [35] Leyser, H. M. O., F. B. Pickett, et al., 1996, *Plant J.*, **10**:403-413.
- [36] Guilfoyle, T., G. Hagen, T. Ulmasov, et al., 1998a, *Plant Physiol.*, **118**:341-347.
- [37] Guilfoyle, T., T. Ulmasov, and G. Hagen, 1998b, *Cell Mol. Life Sci.*, **54**:619-627.
- [38] Malamy J. E. and P. N. Benfey 1997, *Reviews*, **2** (10):390-396.
- [39] Laskowski, M. J., et al., 1995, *Development*, **121**:3303-3310.
- [40] Malamy, J. E. and P. N. Benfey, 1997, *Development*, **124**:33-44.

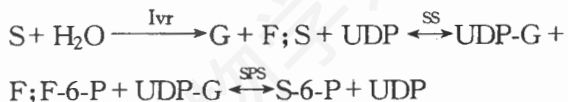
蔗糖代谢相关基因转化植株的研究进展*

安新民** 陈大明**,* 徐昌杰** 张上隆** 陶俊**

(** 浙江大学华家池校区园艺系 杭州 310029)

(*** 北京市农林科学院蔬菜研究中心 北京 100089)

蔗糖是植物体内光合同化物由叶(源)到果实(库)的主要运输形式,也是决定品质形成的关键因子。蔗糖酶又称转化酶或 β -呋喃果糖苷酶(invertase, β -fructofuranosidase, EC 3. 2. 1. 26, Ivr)、蔗糖合成酶(sucrose synthase, EC 2. 4. 1. 13, SS)和蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, EC 2. 3. 1. 14, SPS)与蔗糖的代谢密切相关,它们在蔗糖代谢中分别催化下列反应:



其中 Ivr 分解蔗糖, SS 虽能催化蔗糖的合成,但有足够证据表明在不少植物中它促进蔗糖分解, SPS 则催化蔗糖合成。编码上述三个酶的基因在一些植物中已分离得到,并已在拟南芥^[1]、烟草^[1]、番茄^[2-10]、马铃薯^[11]、胡萝卜^[12,13]和水稻^[14]等植物上获得了这些基因的正义或反义转化植株。本文着重介绍这些转化植株的特性。

一、转化酶基因转化植株

Schaewen 等^[1]于 1990 年首次将酵母转化酶基因 SUC2 正义拷贝导入烟草和拟南芥获得

转基因植株。随后 Ohyama 等^[6]和 Klann 等^[7]分别将番茄酸性转化酶反义基因拷贝导入番茄植株,并对转基因植株的表达进行了研究。Dirk Bussis 等^[11]对正义转入酵母转化酶基因的马铃薯植株进行了研究。Ohyama 等^[8]将番茄细胞壁酸性转化酶反义 cDNA 导入番茄,研究了转基因植株的糖代谢变化和育性。Tang 等^[12]将液泡和细胞壁转化酶反义基因转化胡萝卜,并研究了转基因植株的早期发育和蔗糖分配。综合上述研究的结果,本文对酸性转化酶基因转化植株的特性从以下四方面加以说明。

1. 酶活性的变化

转基因植株的转化酶活性发生了较大的变化。反义基因转化植株酶活性降低,而正义基因转化的植株酶活性则明显升高。Ohyama 等^[6]通过比较发现,与未转化或 GUS 基因转化的对照果实相比,酸性转化酶反义基因转化的红熟果实中可溶性酸性转化酶的活性很低且不及对照果实的 0.5%,不溶性酸性转化酶水

* 国家自然科学基金重点项目(批准号:39730340)资助。