

蓝色花的基因工程育种研究进展

欧阳汝欣

(衡水学院, 河北 衡水 053000)

摘要:植物花色的形成是多种因子协同作用的结果。文章介绍了蓝色花的花色素种类及蓝色花形成的影响因素,综述了蓝色花的基因研究现状及蓝色花基因工程改良的策略和技术,包括反义抑制法、共抑制法、引入外源基因及其它方法等,并对蓝色花的分子育种现状及前景作了介绍及展望。

关键词:蓝色花卉;基因工程;分子育种

中图分类号:S603.6

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)01-0008-03

花色是花卉的一个重要特性,自然界的花卉色彩丰富,但却普遍缺少蓝色系的花。尤其是具有梦幻般色彩的蓝色月季,其市场需求强烈,但目前还没有真正的蓝色月季。蓝色花色素的结构和形成机理以及使花显蓝色的基因工程研究一直是近年来的研究热点。现简要介绍蓝色花的分子育种进展。

1 蓝色花花色素组成及其形成的影响因素

1.1 蓝色花花色素组成

植物的花色主要由黄酮类化合物、类胡萝卜素和生物碱 3 类物质决定^[1-2],其中黄酮类化合物是主要色素类群。黄胤怡等^[3]列举了 18 种蓝色花系植物的蓝色花花色素组成,从中发现翠雀素是最普通的蓝色花的花色素,在 18 种研究植物中有 15 种,其余 3 种植物矢车菊(*Centaurea cyanus*)、牵牛花(*Pharibitis nil*)和绿绒蒿(*Meconopsis betonici folia*)的蓝色花色素分别是琥珀酰花青素苷、甲基花青素和另一以花青素苷为基础的花青素。光谱分析结果表明,与其它以翠雀素为花色素的蓝花植物相比较,这 3 种植物更不易表现出蓝色^[4]。

1.2 蓝色花形成的影响因素

植物花色是多种因子协同作用的结果,细胞中含有高含量的花翠素并不意味着花瓣就能呈现理想的蓝色。花的成色作用还受细胞内 pH、分子堆积作用、螯合作用、花瓣表皮细胞的形状等^[5]因素的影响。植物的花色呈现涉及不同色素之间的共同着色,也涉及色素与共色素、与细胞环境之间的相互作用^[6]。影响花色表现的环境因子包括生态因子、物理因子、化学因子等^[7],在育种过程中存在多种不确

定因素,这为蓝色花的育种增加了难度。

2 蓝色花的基因研究现状

植物花色的呈现是多种因子协同作用的结果,但在根本上是因为特定色素在花瓣细胞中的存在。蓝色花的色素苷类型主要是飞燕草色素苷及其衍生物,即 3',5'-羟基花色素苷。在花色素苷的合成途径中,类黄酮-3',5'-羟基化酶(F3'5'H)是合成 3',5'-羟基花色素苷的关键酶,F3'5'H 基因也被称为蓝色基因(blue gene)^[8-9]。因此,目前国际上在 F3'5'H 基因调控机理方面的研究是蓝色花育种的研究重点。

花色素在合成过程中,类黄酮中的黄烷酮、黄酮醇等都为中间产物,它们在不同酶的催化作用下会形成不同的分支产物,即二氢黄酮醇在 DFR(二氢黄酮醇-4-还原酶)、AS(花色素合成酶)、UF₃GT(UPP-葡萄糖类黄酮-3-O-葡萄糖基转移酶)催化作用下会形成花色素糖苷(使花呈砖红色或红色),而在 F3'5'H、DFR、AS、UF₃GT 酶催化作用下,则形成翠雀素,使花呈蓝色。月季和康乃馨中缺乏编码 F3'5'H 酶的基因,人们期望将该基因引入月季、康乃馨中,使原来合成花葵素苷和花青素苷的代谢方向转向翠雀素糖苷的合成方向,从而使花变为蓝色^[10]。

由于 DFR 基因很早就被分离出来,加上它是花色素合成途径中的关键基因,所以对 DFR 基因的调控会出现新奇的花色。Aida 等将反义 DFR 基因导入蝴蝶草(*Torenia f. ournieri*),发现转化株的花色素苷合成减少,黄酮和黄酮醇(此二者为助色素)含量显著提高,获得了开蓝色花的蝴蝶草,表明调控花色素苷的助色素含量是花色改变的途径之一^[11]。而 F3'5'H 基因直接控制着飞燕草色素(可形成蓝色花)的合成,对蓝色花的育种具有非常重要的作用。因此,人们也就将培育蓝色花的希望寄托于 DFR 基因和 F3'5'H 基因上^[12-13]。月季蓝色花育种里程碑式的进展是将三色堇的 F3'5'H 基因转入,在转基因

收稿日期:2009-09-27

基金项目:衡水学院基金资助项目(2009046)

作者简介:欧阳汝欣(1975-),女,河北武强人,硕士,讲师,从事园林植物与观赏园艺研究。E-mail:ouyangrx06@yahoo.com.cn。

后代植株的花瓣中积累了以飞燕草色素苷为配基的花青素^[14]。

3 蓝色花的基因工程改良

植物基因工程育种也称为转基因育种技术,即利用 DNA 重组技术,把经过分离或人工构建的目的基因通过适当的转基因方法插入到植物基因组中,使该基因得到表达并能遗传至后代的技术体系^[15]。植物花色基因工程改良遵循一般植物基因工程规律^[16],是花卉分子育种内容之一^[17],可将一种植物的基因转移到其他植物中表达和遗传,不再受植物亲缘关系的限制,可扩大植物基因库及定向修饰花卉的某性状而不改变其它性状。

3.1 蓝色花基因工程改良的重要策略

花色往往由多个代谢步骤、多基因决定,利用基因工程技术修饰花色的一个重要策略是还原法(reduction approach)。首先要明确决定该花色的特异生化物质,然后对形成该生化物质的代谢途径进行基因工程操作,具体就是分析催化各反应步骤的酶、编码这些酶的基因及其表达调控^[18]。了解特定色素生物合成途径、克隆关键酶的基因是该植物花色基因工程改良的理论依据和前提^[19]。增强某种关键酶的表达,往往可使花色苷合成途径朝生成其催化产物的方向进行;而抑制该酶的表达,则会使反应朝合成途径的另一分支进行,导致另一种产物的积累,所以增强 $F3'5'H$ 、 DFR 的表达分别是培育蓝花和砖红色花品种的一个切入点^[5]。

3.2 蓝色花基因工程改良技术

3.2.1 利用反义 RNA 和共抑制技术 (1)反义抑制法。利用基因工程技术进行花色修饰的常用方法是反义抑制法(或称反义 RNA 法, Antisense Suppression),即首先明确决定花色的特异生化物质,然后分析该生化物质代谢途径中催化各反应步骤的酶,克隆编码这些酶的基因,反向转入到目的植株中,使外源 DNA 转录产物与内源的互补 mRNA 结合,从而抑制目的植株中这些生化物质的合成,产生花色突变^[2]。主要是通过把 $F3'5'H$ 转入一些花卉中,以期得到蓝色花,而反义 RNA 技术的应用相对较少^[20]。但从花色素的合成途径看,如把正义基因的导入和反义基因的抑制结合起来,将对花色的改良更加有效^[21]。(2)共抑制法。共抑制法(Cosuppression),又称有义抑制法(Sense Suppression),即正向导入一个(或几个)内源基因的额外拷贝,反而抑制该内源基因转录产物 mRNA 的积累,进而抑制该内源基因的表达^[22-23]。Van der Krol 等将外源 DFR 或查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)基因转入

矮牵牛中,结果发现它们的表达量不仅没有增加,反而有所下降^[24]。该技术在矮牵牛^[18]、菊花(*Den-dranthema morifolium*)^[25]、蓝猪耳(*Torenia fournieri*)^[26]等花卉的花色修饰方面已取得成功。目前,对于抑制引起花色多样性的分子机制尚不清楚。

3.2.2 引入外源基因 即将欲修饰的供试株及其近缘种植物中原先不具有的一个(或几个)基因导入其中,从而使该受体植物增加一个(或几个)新的性状^[5]。蔷薇属植物缺乏编码合成蓝色色素——花翠素的关键酶 $F3'5'H$ 的基因,1992 年,澳大利亚 Calgene Pacific 公司与日本 Suntory 公司合作向蔷薇中导入该基因获得成功,同年该公司在矮牵牛中导入该基因获得蓝色矮牵牛^[27]。自然界中,没有蓝紫色的香石竹^[19]。当将矮牵牛或三色堇的 $F3'5'H$ 和矮牵牛的 DFR 基因转入后,后代积累了大量的飞燕草色素苷,花色变成了蓝紫色^[28]。Florigene 和 Suntory 公司通过上述方法培育了一系列的蓝紫色的香石竹品种,这些品种已经在美国、日本、澳大利亚和欧洲一些国家上市 6~10 a 了^[29]。

3.2.3 其它方法 在花色基因工程操作中,也可以导入调节基因以增强或减弱原有代谢产物表达,或导入其他与花成色作用有关的基因,如 pH 基因,辅助色素基因,细胞形状基因等,也可以同时导入与某种花色有关的多种基因。多基因同时导入对培育蓝色月季具有重要利用价值,因为蓝色月季须具备 3 个条件:花翠素、辅助色素黄酮醇、较高的 pH,目前 Suntory 公司和 Calgene Pacific 公司等正在进行这项工作^[5]。

4 结语

近年来,花卉基因工程研究日益增加,发达国家已在观赏植物的花色基因工程上取得了一些成果,而我国在该领域与发达国家相比差距很大。但我国花卉种质资源非常丰富,拥有一些花型奇特、颜色鲜艳的种类,为我国的花卉育种研究提供了有利条件。通过育种学家们的努力,相信会在不久的将来在世界花卉育种领域占有一席之地。不能忽视的一点是,基因工程改良花色可能妨碍植物的生存^[30]。外源基因在转基因植株遗传背景中会产生作用和后果难以预测,其在环境方面的安全性不容忽视,如转基因花卉杂草化、产生对人类有害的代谢物、因基因漂流而污染环境、给传统的传粉者带来困惑等^[31],这就要求人们在花卉的基因工程育种中考虑周到,尽量提高转基因花卉在种植和繁殖过程中的安全性。

参考文献:

- [1] Tanaka Y, Tsuda S, Kusumi T. Metabolic engineering to modify flower color [J]. Plant and Cell Physiology, 1998 (11):

- 1119-1126.
- [2] 何小玲,王金发. 观赏花卉的品质基因及其基因工程问题[J]. 植物生理学通讯,1998,34(6):462-466.
- [3] 黄胤怡,沈明山,李鹏. 蓝色花的基因工程[J]. 植物生理学通讯,2002,38(2):203-206.
- [4] Harborne J B. Chemotaxonomy of anthocyanins and phytoalexins in the compositae[M]. London: Royal Botanic Gardens, 1998: 207-218.
- [5] 赵云鹏,陈发棣,郭维明. 观赏植物花色基因工程研究进展[J]. 植物学通报,2003,20(1):51-58.
- [6] 欧阳汝欣. 蓝色花的形成机制[J]. 生物学通报,2007,42(3):15.
- [7] 赵昶灵,郭维明,陈俊愉. 植物花色形成及其调控机理[J]. 植物学通报,2005,22(1):70-81.
- [8] Holton T A, Tanaka Y. Blue roses-a pigment of our imagination [J]. Tibtech, 1994, 12: 40-42.
- [9] 贾效成,李美茹,陈贻竹. 蓝色玫瑰研究进展[J]. 生物学通报,2003,38(9):12-14.
- [10] Gutterson N. Anthocyanin biosynthetic genes and their application to flower color modification through sense suppression[J]. Hort Sci., 1995, 30: 964-966.
- [11] Aida R, Yoshida K, Kondo T, et al. Copigmentation gives bluer flowers on transgenic torenia plants with the anti-sense dihydroflavonol 1-4-reductase gene[J]. Plant Science, 2000, 160: 49-56.
- [12] 孟丽,戴思兰. F3'5'H 基因与蓝色花的形成[J]. 分子植物育种,2004,2(3):413-420.
- [13] Tanaka S F, Inagaki Y, Yamaguchi T, et al. Colour-enhancing protein in blue petals[J]. Nature, 2000, 407: 581.
- [14] 韩科厅,胡可,戴思兰. 观赏植物花色的分子设计[J]. 分子植物育种,2008,6(1):16-24.
- [15] 戴思兰. 园林植物育种学[M]. 北京:中国林业出版社,2006: 209-229.
- [16] 王关林,方宏筠. 植物基因工程原理与技术[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [17] 程金水. 园林植物遗传学[M]. 北京:中国林业出版社,2000: 23-207.
- [18] 傅荣昭,马江生,曹光成,等. 观赏植物色香形基因工程研究进展[J]. 园艺学报,1995,22(4):381-385.
- [19] Mol J, Holton T A, Koes R E. Genetic engineering of commercial traits of floral crops[J]. Trends Biotechnol, 1995, 13: 350-355.
- [20] Fukui Y, Tanaka Y, Kusumi T, et al. A rationale for the shift in color towards blue in transgenic carnation flower expressing the flavonoid-3', 5'-hydroxylase gene[J]. Phytochemistry, 2003, 63: 15-23.
- [21] 白新祥,戴思兰. 反义 RNA 技术在花色育种中的应用[J]. 植物学通报,2005,22(3):284-291.
- [22] Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans[J]. The Plant Cell, 1990(2):279-289.
- [23] Rjorgensen R A. Co-suppression, flower color patterns and meta-stable gene expression states[J]. Science, 1995, 268: 686-691.
- [24] Van der Krol A R, Mur L A, Beld M, et al. Flavonoid genes in Petunia: Additional of a limited number of gene copies may lead to suppression of gene expression[J]. The Plant Cell, 1990(2):291-299.
- [25] Gutterson N C, Napoli C, Lemieux C. Modification of flower color in florist's Chrysanthemum: production of a white genetics[J]. Bio/Technology, 1994(12):268-271.
- [26] Suzuki K I, Xue H M, Tanaka Y, et al. Flower color modifications of Torenia hybrid by cosuppression of anthocyanin biosynthesis genes[J]. Mol Breed, 2000(6):239-246.
- [27] 苏焕然,张丹,汪清胤,等. 花卉基因工程研究进展[J]. 北方园艺,1996(4):26-28.
- [28] Holton T A. Transgenic plants exhibiting altered flower color and methods for producing same[G]. Australia. US006080920A. United States Patents, 1996: 19.
- [29] Tanaka Y. Flower colour and cytochromes P450[J]. Phytochemistry Reviews, 2006, 5(2):283-291.
- [30] Tao J, Zhang SH L, XU CH J, et al. Gene and gene engineering of carotenoid biosynthesis [J]. China, Journal of Biotechnology, 2001, 18(3):276-281.
- [31] 赵昶灵,郭维明,陈俊愉. 植物花色呈现的生物化学、分子生物学机制及其基因工程改良[J]. 西北植物学报,2003,23(3): 1024-1035.

Advances on Genetic Engineering Breeding of Blue Flowers

OUYANG Ru-xin

(Hengshui University in Hebei Province, Hengshui, Hebei 053000)

Abstract: The formation of flower color is designed of a variety of factors. Introduced types of blue flower pigments as well as the effect factors of blue flowers. Summarized the current situation of blue flowers gene research and the strategies and technologies of the improving of flower color by genetic engineering including antisense suppression method, cosuppression method, inserting foreign gene and other methods. Finally, perspective and situation of developing molecular breeding of blue flower was discussed.

Key words: blue flower; genetic engineering; molecular breeding