

# 花卉基因工程研究进展

吴晓梅, 杨盛昌, 缪颖, 陈德海

(厦门大学生命科学院植物基因与基因技术研究所, 厦门 361005)

摘要: 近十余年来, 花卉基因工程取得了较大的进展, 许多种花都已获得转基因植株, 有的已进入商品化生产阶段. 本文就基因工程在花卉方面的研究和应用作一综述.

关键词: 基因工程; 花卉; 花色; 花型; 衰老

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-7817(2003)03-0325-06

## Advances in flower genetic engineering

WU Xiao-mei, YANG Sheng-chang, MIAO Ying, CHEN De-hai

(Institute for Plant Gene & Gene Technology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Important progress in flower genetic engineering, including improvement of the color, shape, flowering time and so on, has been made in the past ten years. Some transgenic flowers have been commercially released. Advances in this field have been due to the isolation and cloning of many important regarding genes and the development of a range of plant transformation technology, along with appropriate tissue culture techniques for regenerating whole plants.

Key words: genetic engineering; flower; flower color; flower shape; floescence

花卉新品种选育的传统途径主要包括以下几种: (1) 引种驯化结合定向选择、培养, 即引进外地栽培品种或野生品种甚至非观赏植物, 经人工培养, 使之适应新环境. 在适应新环境的过程中产生变异, 通过繁育特殊的变异个体定向选育出具有有利性状的新品种. 这是一条迅速且经济的有效途径. (2) 有性杂交育种. 可利用亲本的性状互补原则, 通过多品种、组合杂交或远缘杂交等选育出具有优良性状的新品种. (3) 人工诱变结合组织培养, 包括利用物理、化学、生物等因素诱导细胞发生遗传性变异, 再通过组织培养快速繁殖, 选育出新品种. 这些传统方法至今仍具有难以替代的地位, 但也有局限性. 引种驯化、杂交选育历时长、变异频率低, 难以突破物种间的生殖隔离; 人工诱变具有很大的盲目性, 有利变异频率不能满足人们的需求.

自 1987 年 Meyer et al<sup>[1]</sup> 获得转基因矮牵牛以来, 花卉基因工程迅速发展, 并已成为花卉育种的新趋势. 花卉基因工程通过抑制内源基因或导入外源基因而定向改造特定性状且不丧失原有性状, 大大缩短了新品种选育的时间; 而且可以突破种间不亲和的限制, 将目的基因引入原来没有这种基因的物种, 从而极大地改良花卉品质, 甚至创造新品种.

## 1 花卉目的基因的研究

花卉品质性状包括花色、花香、花型、花姿、花期、花的大小、花的质感、抗逆性、适应性、环保性等<sup>[2]</sup>. 目前, 目的基因的研究主要集中在花色、花型、花期等, 其它方面较少<sup>[3]</sup>.

### 1.1 与花色有关的基因

影响花色的因素包括色素(pigments)和辅色素(co-pigments)、液泡内 pH、环境因子、金属离子、色素细胞的形状和分布等, 这些因素都受控于相应的基因<sup>[4,5]</sup>. 目前, 有关与花色色素代谢相关的结构基因的研究较多, 有关多色素共着色、调节基因以及金属离子的螯合等对花色影响的报道较少.

1.1.1 与三大类花色色素合成相关的基因 决定花卉颜色的色素主要是黄酮类色素(flavonoids)、类胡萝卜素(carotenoids)和生物碱(alkaloids).

收稿日期: 2002-08-26

基金项目: 福建省科委资助项目(99-Z-115).

作者简介: 吴晓梅(1971-), 女, 硕士. 研究方向: 植物细胞分子生物学.

(1) 黄酮类色素的合成及其相关基因. 黄酮类色素主要积累在花瓣表皮细胞的液泡内, 是花和果实的主要色素, 其生物合成可分为 2 个阶段<sup>[6]</sup>. 第 1 阶段主要形成稳定的花色素-3-糖苷 (anthocyanin), 如呈粉红-红色的矢车菊色素苷 (cyanin)、呈橙黄-砖红色的花葵色素苷 (pelargonin)、呈紫罗兰-蓝色的翠雀素苷 (delphinin) 以及芍药色素苷 (peonin)、锦葵色素苷 (malvin)、矮牵牛色素苷 (petunin) 等. 第 2 阶段则将第 1 阶段产物进行 5-糖基化、酰基化、甲基化. 如回回苏 (*Perilla frutescens* var. *α ispa*) 所含的丙二酰紫苏苷红色素 (malonyshisonin) 即是由矢车菊素-3-糖苷通过葡糖基的 6-O-对-香豆酰化和 5-糖基化形成矢车菊素-3-O-(对-香豆酰基) 葡糖基-5-O-葡糖基, 再在 5-O-葡糖基的 6-O-上发生丙二酰转移形成的<sup>[7]</sup>.

在多色素共着色形成的复合物中, 5-糖基化比 3-糖基化的色素更稳定, 花卉颜色更多是由它们决定. 5-糖基化可使花卉颜色从暗紫或纯红转变为亮红紫色, 如紫苏 (*Perilla*) 和马鞭草 (*Verbena*) 的花色素是 5-糖基化的. 因此 UDPG-花色素苷 5-O-葡糖基转移酶 (UDPG-anthocyanin 5-O-glucosyltransferase, 5GT) 对于花色尤其是紫色的产生非常重要<sup>[7]</sup>.

黄酮类色素生物合成第 1 阶段所有酶的结构基因和一些调节结构基因活性、色素空间和时间积累的调节基因 (如矮牵牛的 AN1、AN2、AN10、AN11, 金鱼草的 ROSEA 等)<sup>[6]</sup> 以及第 2 阶段部分酶 (如 5GT) 的基因已克隆<sup>[8]</sup>. 但第 2 阶段某些重要的酶如丙二酰转移酶 (malonyl transferase) 的基因和其它调节基因还未克隆.

DFRs 对不同底物的结合由其分子中底物结合区的氨基酸序列所决定, 结合区中单个氨基酸的改变可影响其对底物的结合, 从而改变花色. 如将野生型非洲菊 (*Gerbera*) 的 DFR 第 134 位 asp 突变为 leu, 突变体 DFR 不能还原 DHM, F3 5 H 还原 DHK 形成的无色 DHM 积累, 使花由紫色变为白色<sup>[9]</sup>. DFR 基因的失活抑制花色素苷形成, 使液泡内黄酮、黄酮醇等辅色素累积, 这有利于蓝色的形成<sup>[10]</sup>. DHK 在 F3 H 和 F3 5 H 催化下分别形成 DHQ 和 DHM, 编码该酶的基因 Hf1 或 Hf2 的表达都能使花色素苷生物合成途径趋向于产生蓝色的翠雀素糖苷.

一些环境因子 (如授粉和光照) 可作为信号在转录水平上调控花色素基因的表达, 诱导黄酮类色素的生物合成. 如堇菜属的角堇 (*Viala cornuta*), 在开花后 5-8 d 内花色从白色变成淡紫最后变成深紫<sup>[11]</sup>. 授粉在这一过程中起到了关键作用, 人工去雄后未授粉的花朵保持白色, 而正常自花授粉或人工异花授粉的花朵均变色. 花粉中所含的许多物质如生长素 (auxin)、寡糖 (oligosaccharide)、茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate)、类油菜素内酯 (brassinosteroid) 等可诱导花青素生物合成途径中关键酶基因转录<sup>[12]</sup>, 使花色改变. 光可诱导花青素的合成, 植物中的光受体接受光信号并进行信号转导, 最终激活花青素类生物合成关键酶的基因. 目前已鉴定出许多这种光调控基因的启动子中的光反应元件 (LREs)<sup>[13]</sup>.

(2) 类胡萝卜素的生物合成及其相关基因. 花瓣中存在的多为 B-胡萝卜素和萹菜黄质, 它们常与噢啉结合使花瓣 (如月季、水仙和郁金香)、叶片和果实等呈黄色及橙色. 类胡萝卜素生物合成途径已清楚<sup>[14]</sup>, 其中 GGPS 是催化异戊烯焦磷酸 (IPP) 转化为 牛儿基 牛儿基焦磷酸 (GGPP) 的限速酶, 其活性高低影响类胡萝卜素和其它产物的合成. 主要酶类 (PSY、PDS、ZDS、GGPS) 的基因已被克隆, 但目前还未获得转类胡萝卜素的转基因花卉.

(3) 生物碱及其相关基因. 色素中的生物碱包括甜菜碱 (betalains)、小檗碱、罂粟碱. 它们的生物合成途径已了解清楚<sup>[15]</sup>, 关键酶的基因也克隆到一些, 但还未见利用于花卉基因工程的报道.

1.1.2 影响液泡 pH 值的基因 仅仅将矮牵牛的蓝色基因 (Hf1/Hf2) 转入玫瑰, 并不能得到蓝色的玫瑰. 植物分子遗传学研究表明, 液泡内的 pH 值也是影响花卉颜色的重要因素之一. pH 较低时, 花趋向于红色, 较高时趋向于白色, 接近 7 时呈现蓝色. 已从矮牵牛中分离到 6 个调控植物 pH 的基因即 pH1、pH6<sup>[16]</sup>, 这使人们获得蓝色花卉的希望更大了. 另外, 花色苷合成的一些调节基因如 AN1、AN2、AN11 等也会影响液泡 pH<sup>[17]</sup>.

## 1.2 与花型有关的基因

花器官的分化主要由花器官特异基因 (organ identity gene) 控制, 也受温度和光照的影响<sup>[18]</sup>. 这些花器官特异基因多属于同源异型基因 (homeogene), 可分为 4 大类<sup>[19,20]</sup>: A. 控制第 1、2 轮, 即萼片和花瓣; B. 控制第 2、3 轮, 即花瓣和雄蕊; C. 控制第 3、4 轮, 即雄蕊和心皮; D. 控制胎座和胚珠. 每一类同源异型基因

对邻近的2个轮起作用.研究发现,这些同源异型基因具有168 bp的保守序列-MADS盒,此盒编码61个氨基酸.这些同源异型基因编码的转录因子作用于靶基因启动子中CarG序列,从而调节靶基因的表达,主要是在植物从营养生长向生殖生长转变、花序分生组织向花分生组织过渡及花器官发育中起开关作用,从而决定花器官的性状<sup>[21]</sup>.

现已克隆出大量同源异型基因,如AP3、AG、DEFA、CAL、LFY1、CEN、FLO、SQUA、UFO、CLV1、FBP2、FBP11、FBP7、CYC、DICH、RAD、DIY、CMB2<sup>[22-32]</sup>,对它们的功能及突变体表型的研究也较为深入,这为基因工程改变花型奠定了基础.若CyC和DICH都发生突变,将使金鱼草等的花瓣从两侧对称变为辐射对称<sup>[30]</sup>,而FLO的突变体则形成重复的花序而不能形成花<sup>[26]</sup>.

### 1.3 与花期有关的基因

开花是植物从营养生长向生殖生长转变的过程.一般花发育过程如下:营养分生组织→花序分生组织→花分生组织→花器官原基→花器官的形成.花发育的分子遗传学研究表明,植物开花由植物内部的各种开花相关基因调控,与环境因素(主要有温度和日照长度)以及植物自身的生长状况有关,环境因子作为一种信号,可诱导相关基因的表达.

调控花形成的基因<sup>[33-36]</sup>主要是花分生组织特异基因(flower-meristem-specific genes)、器官特异基因(organ-specific genes)和开花时间决定基因(flowering-time gene).

花分生组织特异基因主要控制茎端分生组织向花序分生组织转变,促进花序分生组织产生花分生组织,如拟南芥中已克隆到的LFY、AP1、AP2、CAL、UFO等.这类基因的突变可影响花的着生部位,也可影响开花时间.如将LFY基因与CaMV35S启动子连接,导入拟南芥,大多数转基因植株侧生枝被单朵花取代,主茎也形成了花,且开花时间早于野生型;转入杨树,则开花所需时间由原来的8-10 a缩短为6-7个月<sup>[24]</sup>.

器官特异基因控制花分生组织产生花器官原基,主要控制花的器官发生.

开花时间决定基因(flowering-time gene),可以不受环境因子的影响.它们的表达可激活花分生组织特异基因,从而影响开花<sup>[36]</sup>.开花时间决定基因可分为促进基因(如已克隆到的ADG-1、CO、FPP-1、DET2、FCA、FHA、FT、FVE、GA1、GAL、GI、LD、PGM、PHYA)和抑制基因(EMF、CCAL、CLF、ELF3、LHY、PHYB、SPY、TFL1、WLC、ESD4).其中,EMF最为重要,突变体emf1、emf2甚至可不经营养生长而直接开花<sup>[26]</sup>.

### 1.4 与花卉衰老相关的基因

花衰老时,许多相关基因(senescence-associated gene, SAG)<sup>[37]</sup>表达显著加强.已克隆到许多SAGs,它们主要编码一些蛋白酶、RNA酶、ACC氧化酶、脂肪酶、过氧化氢酶等,从而引起光合效率的下降、蛋白质的降解、脂类的过氧化、核酸分子降解、总RNA水平下降、细胞膜系统破坏等,最终导致花卉死亡.

花卉的衰老是一程序性过程,SAGs的表达与花卉自身生长状况有关.和其它生理过程一样,衰老也受许多环境因子诱导,如营养亏缺、病原物入侵、缺水、光照和温度失常以及一些化学物质(如O<sub>3</sub>、乙烯等).研究表明,乙烯、ABA、水杨酸、Ca<sup>2+</sup>等可作为信号传递分子<sup>[38]</sup>.

乙烯与花卉衰老密切相关.花卉衰老的最初反应之一就是自动催化产生乙烯,产生的乙烯又进一步促进衰老.参与乙烯生物合成反应的所有酶基因均已从多种植物包括一些花卉中被克隆、鉴定,并应用于花卉抗衰老的研究.ACC合成酶是乙烯合成反应限速酶,编码该酶的基因是一多基因家族,各成员的表达具有组织特异性.在康乃馨花器官中,该基因家族的3个成员分别在花柱(DCACs2、DCACs3)和花瓣(DCACs1)中特异表达<sup>[39]</sup>,它们的表达受相应因素诱导,包括各种化学物质(如生长素、外源乙烯、Li<sup>+</sup>等)、授粉.许多花粉含有高浓度形成乙烯的前体ACC,所以授粉引起乙烯产量明显提高从而促进花衰老.

## 2 改良花卉品质的基因工程策略

利用各种基因工程手段已获得一批转基因花卉,如矮牵牛(Petunia)、香石竹(Dianthus)、草原龙胆(Eustoma)、菊花(Dendranthema)、百合(Lilium)、玫瑰(Rosa)、郁金香(Tulipa)、非洲菊(Gerbera)等.总的来看,基因工程改良花卉品质是通过抑制、增强或引入控制目标性状物质生物合成的关键酶基因而实现.

## 2.1 反义 RNA(antisense RNA)技术

反义 RNA 可在 DNA 复制、转录和翻译水平上部分或全部地抑制目的基因的表达,导致中间产物积累,性状改变。

(1)用于花色改良.将矮牵牛花 CHSA 的反义 RNA 与 CaMV 的 35S 启动子连接,再接到双元载体 Bin19 上,转化矮牵牛,抑制矮牵牛 CHS 基因的活性,造成无色底物累积,再生的转基因植株花色从原来的紫色变成了粉红色并夹杂白色,有些花朵呈全白色<sup>[40]</sup>.将 F3H 基因的反义 RNA 导入红色康乃馨,使其花色从红色变成白色<sup>[3]</sup>.

(2)用于花型的改良.将从矮牵牛花中克隆到的同源异型基因 fbp2 的 cDNA 与 CaMV35S 启动子和 NOS3 终止子融合,通过农杆菌导入烟草,使其在雄蕊上产生花瓣<sup>[41]</sup>.

(3)用于花期改良.将拟南芥 LFY 的 cDNA 转入菊花,使有些菊花花期提前 60 多天<sup>[42]</sup>.

(4)用于延长花卉寿命.抑制乙烯生物合成关键酶如 ACC 合成酶是延长花卉寿命的主要途径.将 ACC 合成酶反义基因导入香石竹,使其观赏寿命延长 2 倍<sup>[43]</sup>.

## 2.2 核酶(ribozym)技术

核酶可特异性地切断 mRNA 分子,使基因发生转录后的沉默.将特异的核酶导入花卉细胞内使其抑制控制目标性状的关键酶基因的表达,达到改良的目的.但这方面成功的例子很少。

## 2.3 共抑制法(co-suppression)

共抑制法,也称有义抑制法(sense suppression),通过导入 1 个或多个内源基因额外的拷贝,引起该内源基因与导入的基因一起发生转录后的基因沉默,即产物 mRNA 被降解而不能积累,进而抑制该内源基因的表达.该技术在矮牵牛和菊花的花色修饰方面取得了成功.将从矮牵牛花瓣中克隆到的 CHSA 基因导入矮牵牛,使原来单纯呈紫色的矮牵牛花变成白或紫白相间,而且相间方式多种多样,更有趣的是在同一植株上,会开出各类花<sup>[44]</sup>.

## 2.4 导入一个或几个目的基因以增强酶活性,从而使植物性状改变

植物体内缺乏某一种或几种关键酶基因,或者基因发生突变是其不能表现某一性状的主要原因.如自然界中的石竹、菊花、蔷薇等重要花卉没有真正开蓝花的,由于它们没有编码 F3 5 H 的活性基因<sup>[3]</sup>.澳大利亚 Florigene 公司和日本 Suntory 公司正在合作生产蓝色康乃馨,通过将矮牵牛编码 F3 5 H 和 DFR 的基因转入白花康乃馨<sup>[45]</sup>.矮牵牛的 DFR 不能有效还原自身 DHK 产生天竺葵素,所以自然界中的矮牵牛花色没有橙黄-砖红色.将玉米编码 DFR 的 A1 基因导入矮牵牛 RL01 中,将其 DHK 还原形成天竺葵素,使矮牵牛白花变成砖红色花<sup>[1]</sup>.

导入正义基因以增强原有酶的合成也是基因工程改良花卉性状的常用手段.如将乙烯生物合成途径中的 ACC 脱氢酶、SAM 水解酶的正义基因导入花卉,可明显抑制其衰老<sup>[46,47]</sup>.

## 3 展望

尽管利用基因工程技术改善花卉的色、香、型等品质已取得了重大进展,但距离大规模品种改良还很遥远,真正开始商品化生产还很少.目前在花卉基因工程研究中存在的问题主要包括:分离鉴定到的目的基因少,许多重要性状的基因(如香味生物合成途径中许多关键酶基因、部分花色调节基因等)尚未分离出来,导致新品种培育受限;有关基因对性状的控制研究不够,这主要是由于许多性状都由多基因决定且基因表达的时间难以控制;受体系统转化频率低,基因型依赖性强;外源基因的插入具有随机性,尤其是通过农杆菌介导的 T-DNA 整合不稳定,植株后代遗传不稳定,而且有可能影响其它代谢;操作方法不够简便.随着更多目的基因的分离及基因表达调控研究的不断深入、遗传转化技术的改进等,将有可能对花卉整个生物合成途径进行遗传操作,基因工程对花卉的品质改良所具有的巨大潜力将得到更好的发挥。

## 参考文献:

[1] MEYER P, HEIDMANN I, FORKMANN G, et al. A new petunia flower color generated by transformation of a mutant with a maize gene[J]. Nature, 1987, 330: 677- 687.

[2] 何生根.切花品质的生理生化基础[J].植物生理学通讯, 1997, 33(1): 66- 70.

- [3] TANAKA Y, TSUDA S, T KUSUMI T. Metabolic engineering to modify flower color[J]. *Plant Cell Physiology*, 1998, 11: 1119- 1126.
- [4] ASEN S. Anthocyanin, flavonol copigments, and pH responsible for larkspur flower color[J]. *Phytochemistry*, 1975, 14: 2677- 2682.
- [5] BROUILLARD R. The in vivo expression of anthocyanin color in plants[J]. *Phytochemistry*, 1983, 22: 1311- 1323.
- [6] DOONER H K, ROBBINS T P. Genetic and developmental control of anthocyanin biosynthesis[J]. *Ann Rev Genet*, 1991, 25: 173- 199.
- [7] GONG Z Z, YAMAZAKI M, SUGIYAMA M, et al. Cloning and molecular analysis of structural genes involved in anthocyanin biosynthesis and expressed in a form-specific manner in *Perilla frutescens*[J]. *Plant Mol Biol*, 1997, 35: 915- 927.
- [8] YAMAZAKI M, GONG Z Z, MIZUTANI M F, et al. Molecular cloning and biochemical characterization of a novel anthocyanin 5-O-glucosyltransferase by mRNA differential display for plant forms regarding anthocyanin[J]. *Biol Chem*, 1999, 274(11): 7405- 7411.
- [9] ERIC J, JOHNSON E, SUNHYO R, et al. Alteration of a single amino acid changes the substrate specificity of DFR[J]. *The Plant Journal*, 2001, 25(3): 325- 333.
- [10] RYUTARO A, KUMI Y, TADAO K, et al. Copigmentation gives bluer flowers on transgenic torenia plants with the antisense dihydroflavonol-4-reductase gene[J]. *Plant Science*, 2000, 160: 49- 56.
- [11] FARZAD M, GRIESBACH R, WEISS M R. Floral color change in *Vida cornuta* L. (Violaceae): a model system to study regulation of anthocyanin production[J]. *Plant Science*, 2002, 162: 225- 231.
- [12] O NEILL S D. Pollination regulation of flower development [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48: 547 - 574.
- [13] CHATTOPADHYAY S, ANG L, PUENTE P, et al. Arabidopsis bZIP protein HY5 directly interacts with light-responsive promoters in mediating light control of gene expression[J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 673- 683.
- [14] LADYGIN V G. Current state of carotenoid biosynthesis in chloroplasts of eucaryotes[J]. *Zh Obshch Biol*, 2002, 63(4): 299- 325.
- [15] FACCHINI P J. Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 29- 66.
- [16] CHUCK G, ROBBINS T, NIJJAR C, et al. Tagging and cloning of a petunia flower color gene with the maize transposable element activator [J]. *The Plant Cell*, 1993, 5: 371- 378.
- [17] MOL J, GROTEWOLD E, KOES R. How genes paint flowers and seeds [J]. *Trends Plant Sci*, 1998, 3: 212- 217.
- [18] CATLEY J L, BROOKING I R, DAVIES L J, et al. Temperature and irradiance effects on *Sandersonia aurantiaca* flower shape and pedicel length[J]. *Scientia Horticulture*, 2002, 93: 157- 166.
- [19] COEN E S, MEYEROWITZ. The war of the whorls: genetic interactions control flower development[J]. *Nature*, 1991, 353(1): 31- 37.
- [20] 许智宏. Plant development and reproduction: advances and perspectives[J]. *植物学报*, 1999, 41(9): 909- 920.
- [21] 魏文辉, 宋运淳, 覃瑞. 植物同源异型基因及同源异型盒基因的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27(2): 136- 139.
- [22] JACK T, BROCKMAN L L, MEYEROWITZ E M. The homeotic gene *APE TALA3* of *Arabidopsis thaliana* encodes a MADS box and is expressed in petals and stamens[J]. *Cell*, 1999, 68: 683- 689.
- [23] MIZUKAMI Y, MA H. Determination of *Arabidopsis* floral meristem identity by *AGAMOUS*[J]. *Plant Cell*, 1997, 9: 393- 408.
- [24] WEIGEL D, NILSSON O. A development switch sufficient for flower initiation in diverse plants[J]. *Nature*, 1995, 377: 495- 500.
- [25] BRADLER D, RATCLIFFE J, WINCENT C, et al. Inflorescence commitment and architecture in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 1997, 275: 80- 83.
- [26] LEVY Y Y, DEAN C. The transition to flowering[J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 1973- 1990.
- [27] FU Y F, MENG F J. Gene regulation of flowering transition [J]. *植物生理学通讯*, 1997, 37(5): 393- 400.
- [28] FU Y F, ZHAO D G, HAN Y Z, et al. Floral homeotic gene *FBP-2* regulates the expression of peroxidase in leaves[J].

植物生理学报, 2000, 26(4): 293- 296.

- [29] GUO F L, MENG F J. Research progress on floral organ development in *Petunia*[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(4): 292 - 296.
- [30] LUO D, CAEPENTER R, VINCENT C. Origin of floral asymmetry in *Antirrhinum*[J]. *Nature*, 1996, 383: 794- 799.
- [31] CROND Q, MOLLER M. Genetics of floral symmetry revealed[J]. *Trends Ecol Evol*, 1997, 12: 85- 86.
- [32] BAUDINETTE S C, STEVENSON T W, SAVIN K W, et al. Isolation and characterization of the carnation floral-specific MADS box gene, CMB2[J]. *Plant Science*, 2000, 155(2): 123- 131.
- [33] WEIGEL D, ALVARWZ J, SMYTH D R, et al. LEAFY controls floral meristem identity in *Arabidopsis*[J]. *Cell*, 1992, 69: 843- 859.
- [34] SIMON R, IGENO M I, COUPLAND G. Activation of floral meristem identity genes in *Arabidopsis*[J]. *Nature*, 1996, 384: 59- 62.
- [35] 雍伟东, 谭克辉, 许智宏, 等. 高等植物开花时间决定的基因调控研究[J]. 科学通报, 2000, 45(5): 455- 466.
- [36] 安利忻, 李毅, 刘荣维, 等. 高等植物开花的基因调控[J]. 高技术通讯, 1998, 8(9): 59- 62.
- [37] WEAVER L M, GAN S, QUIRINO B, et al. A comparison of the expression patterns of several senescence-associated genes in response to stress and hormone treatment[J]. *Plant Mol Biol*, 1998, 37: 455- 469.
- [38] JENNIFER D, MILLER P, RICHARD N, et al. Senescence-associated gene expression during ozone-induced leaf senescence in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 1999, 120: 1015- 1024.
- [39] MICHELLE L, JONES W, WILLIAM R, et al. Differential expression of three members of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family in carnation[J]. *Plant Physiol*, 1999, 119: 755- 764.
- [40] VAN D E R, KROL A R, LENTING P E, et al. An antisense chalcone synthase gene in transgenic plants inhibits flower pigmentation[J]. *Nature*, 1988, 333: 866- 869.
- [41] 于静娟, 国风利, 赵德刚, 等. 矮牵牛花同源异型基因 *fbp2* 的克隆及其对烟草花形态的影响[J]. 植物学报, 1999, 41(1): 45- 50.
- [42] 邵寒红, 李继红, 郑学勤, 等. 拟南芥的克隆及转化菊花的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(3): 268- 271.
- [43] AANHANE T, AFFRS D R, FLORIGENE B V, et al. First rDNA flower to debut in Australia this summer[J]. *Biotechnology News*, 1995, 15(14): 3.
- [44] 邵莉, 李毅, 陈章良. 查尔酮合酶基因转化矮牵牛[J]. 生物学通报, 1995, 30(6): 11- 12.
- [45] ERIC J, JOHNSON, HAN K Y, et al. *Cymbidium hybrida* DFR dose not efficiently reduce DHK to produce orange pelargonidin-type anthocyanins[J]. Short communication, the *Plant Journal*, 1999, 19(1): 81- 85.
- [46] KLEE R E. Isolation, sequencing, and expression ACP gene encoding ACC deaminase[J]. *Bacteriol*, 1991, 173: 5260- 5265.
- [47] FERRO A J. Genetic control of ethylene biosynthesis in plants using SAM hydrolase [P]. United States Patent: 5416250, 1995.

(责任编辑: 陈幼玉)