

# ‘黄金梨’果实木质素合成途径相关酶基因的克隆及其在果实发育中的表达分析

张夏南, 杨绍兰, 王成荣, 王 然\*

(青岛农业大学园林园艺学院, 山东青岛 266109)

木质素是植物细胞壁的主要成分之一, 有利于巩固和支持植物体及水分的输导作用。然而, 果实中木质素的过多积累会影响果实的品质和口感。为了深入探讨木质素合成的分子机理, 对木质素合成相关酶包括苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4CL)、肉桂醇脱氢酶 (CAD) 和过氧化物酶 (POD) 进行了基因克隆, 分析了其在果实不同发育阶段的表达模式。

黄金梨 (*Pyrus pyrifolia* Nakai. ‘Whangkeumbae’) 果实采自山东莱阳李家泊村果园。于花后 20 d 开始每 15 d 采样 1 次, 直至果实采收。果实去皮去核后将果肉切成 1 cm<sup>3</sup> 小块后立即用液氮处理。

采用改良 CTAB 法提取 RNA, 利用 RT-PCR、RACE 技术进行基因克隆, 采用实时荧光定量 PCR 技术, 以梨 *actin* 基因为内参, 分析各基因在果实的不同发育成熟阶段的表达特性。

目前已经从黄金梨果肉中分离出 10 个 cDNA, 其中 7 个为全长 cDNA, 暂命名为 *Pp4CL1*, *Pp4CL2*, *PpCAD*, *PpPOD1*, *PpPOD2*, *PpPOD3*, *PpPOD4*。基因序列分析表明: *PpPAL1* 与 *PpPAL2* 之间的氨基酸同源性为 84%, *PpPAL1* 与西洋梨 (ABB70117.2) 的氨基酸同源性最高, 为 99%; *PpPAL2* 与枇杷 *PAL1* (ABV44808.1) 的同源性为 99%; *Pp4CL1* 与 *Pp4CL2* 之间的氨基酸同源性为 66.5%, *Pp4CL1* 基因与欧洲花楸 *4CL1* 基因在氨基酸水平上的同源性为 99%, *Pp4CL2* 基因与欧洲花楸 *4CL2* 基因的同源性为 96%; *PpCAD* 基因与苹果 *CAD* (AF053084.1) 氨基酸同源性最高, 为 97%; 而 4 个 *POD* 基因之间的同源性为 44.5%, *PpPOD1* 与荔枝 *POD5* (FJ207518.2) 同源性最高, 为 73%; *PpPOD4* 与大豆 *POD* (AF145348.1) 同源性最高, 为 82%; *PpPOD2* 与 *PpPOD3* 与近缘植物 *POD* 基因的氨基酸同源性较低, *PpPOD2* 与蓖麻 *POD* (XM\_002510541.1) 同源性最高, 为 46%。*PpPOD3* 与柑橘 *POD1* (DQ650639.1)、荔枝 *POD2* (FJ157350.1) 同源性最高, 为 67%。

基因表达的实时荧光定量 PCR 分析结果表明: *PpPAL1* 与 *PpPAL2* 在整个果实生长发育阶段的表达模式略有差异, 花后 20~36 d, *PpPAL1* 基因表达量上升, 随后逐渐下降, *PpPAL2* 基因表达量在花后 20 d 左右最高, 随着果实的生长发育, 逐渐下降, 花后 85 d 之后维持较低的基因表达量。*Pp4CL1* 与 *Pp4CL2* 基因在幼果期表达, 而在果实发育后期, 基因相对表达量极低。4 个 *POD* 基因表现出不同的基因表达模式, *PpPOD4* 在整个果实发育阶段中的相对表达量显著高于 *PpPOD1*、*PpPOD2*、*PpPOD3*, 花后 20~53 d 表达量逐渐升高, 53 d 时达到最大值, 随后逐渐下降, 花后 101 d 至采收表达量稳定在低水平。

**关键词:** 梨; 木质素; 基因克隆; 基因表达

**中图分类号:** S 661.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) S-2469-01

**收稿日期:** 2011-09-04

**基金项目:** 现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (nycytx-29-06)

\* 通信作者 (E-mail: z.xn2009@163.com; Tel: 15853297209)