

# 莲藕根状茎膨大相关基因的挖掘与表达分析

程立宝, 齐晓花, 高学双, 巴津津, 尹静静, 陈学好, 李良俊\*

(扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

**摘 要:** 研究发现, 莲藕根状茎干物质、可溶性糖及可溶性蛋白含量随着根状茎发育而逐步增加, 尤其在根状茎发育后期含量增加更加明显。在此基础上, 利用转录组测序技术, 归纳并分析 86 个可能与莲藕根状茎膨大相关基因, 分别为 35 个激素诱导蛋白基因、4 个光诱导蛋白 (MADS-BOX) 基因、11 个根状茎贮藏蛋白基因 (*Patatin*)、35 个与淀粉代谢相关基因以及 1 个与根状茎形成相关基因。数字基因差异表达谱研究结果表明, 根状茎贮藏蛋白家族基因 (*Lrplp6*、*Lrplp9*、*Lrpfp1*、*Lrprp*、*Lrpfp2*、*Lrplp4*、*Lrplp5*、*Lrplp8*、*Lrpp*、*Lrplp2*) 和淀粉合成相关基因 (*Lrgbss*、*Lrsbe1*、*Lrsbe2*、*LrsbeII*、*LrsbeIII*) 在根状茎形成后期表达量高, 表达丰度均为初期的 3 倍以上, 而其他基因变化相对较小。半定量 RT-PCR 结果进一步证明上述数字基因差异表达谱结果的可靠性, 同时也表明 *Lrplp8* 和 *Lrgbss* 的表达与根状茎膨大具有高度相关性。由此认为, 上述 10 个贮藏蛋白合成相关基因和 5 个淀粉合成相关基因, 尤其 *Lrplp8* 和 *Lrgbss*, 对莲藕根状茎的膨大起到重要作用。

**关键词:** 莲藕; 根状茎; 基因表达; 激素; 调控

**中图分类号:** S 645.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 03-0501-08

## Isolation and Expressing Profile Analysis of Enlarging Related Genes in Lotus Root Rhizome

CHENG Li-bao, QI Xiao-hua, GAO Xue-shuang, BA Jin-jin, YIN Jing-jing, CHEN Xue-hao, and LI Liang-jun\*

(School of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

**Abstract:** It was found that the contents of dry matter, soluble sugar and soluble protein were enhanced with the growth and development of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) rhizome, especially in the later enlarging period of rhizome. In present study, transcriptome sequencing technologies were used to analysis the genes involved in development of lotus rhizome included 35 hormone related protein genes, 4 light induced protein genes, 35 starch metabolisms related genes and 1 tuberization gene, which might be related to enlarging of lotus rhizome were found. The result of digital gene expression profiles showed that ten *Patatin* family genes (*Lrplp6*, *Lrplp9*, *Lrpfp1*, *Lrprp*, *Lrpfp2*, *Lrplp4*, *Lrplp5*, *Lrplp8*, *Lrpp*, *Lrplp2*) and five starch metabolism related genes (*Lrgbss*, *Lrsbe1*, *Lrsbe2*, *LrsbeII*, *LrsbeIII*) significantly changed their expression levels with at least 3 fold in the later period compared with the initial period, while other genes did not obviously alter their expression. The result of *Lrplp8* and *Lrgbss* temporal and

收稿日期: 2011 - 10 - 24; 修回日期: 2012 - 02 - 21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31071795); 国家公益性行业专项 (200903017-02)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: ljli@yzu.edu.cn)

spatial expression by semi-RT-PCR in lotus root was similar to the results revealed by digital gene expression profile, suggesting that these two genes were highly correlated with rhizome enlarging. Therefore, we speculated that above 10 *Patatin* genes and 5 starch metabolism genes played important roles in rhizome enlarging of lotus root.

**Key words:** lotus root; rhizome; gene expression; hormone; regulation

一般认为植物根状茎的膨大源于细胞体积的增大 (Reeve et al., 1973)。影响植物根状茎膨大的因素主要体现在以下几个方面: 第一, 植物激素起重要作用。很多研究表明, ABA、GA、IAA 对根块茎的形成起到重要的作用 (Okazawa, 1960; Catchpole & hillman, 1969; Kumar & Wareing, 1973; 柳俊和谢从华, 2001; 许超, 2002; 郑永强, 2004; 李良俊 等, 2006; 高丽 等, 2007), 第二, 光周期诱导蛋白 (MADS-BOX) 和 *Patatin* 合成酶基因的表达对根、块茎的形成非常重要。MADS-box 基因能够通过接受光信号来调控植物由营养生长向生殖生长的转化, 进而影响茎块的形成 (Kang & Hannapel, 1996; Migney et al., 1988)。*Patatin* 是茎块发育过程中特异合成的物质, Jefferson 等 (1990) 等发现离体条件下诱导马铃薯块茎形成过程中, 长日照培养的腋芽检测不到块茎贮藏蛋白 (*Patatin*), 而短日照培养的气生块茎和正常形成的块茎中 *Patatin* 含量非常高, 因此证明 *Patatin* 的表达和块茎诱导形成具有高度的相关性。另外, 染色体上部分 *Patatin* 重排将导致马铃薯丧失形成茎块的能力 (Park et al., 1985)。第三, 淀粉是莲藕根状茎的主要储藏物质。莲藕在开始膨大时淀粉含量迅速增长, 所以根据淀粉的合成特性, 有人认为淀粉的合成是根状茎发育的必须条件 (Hawker et al., 1979)。

前人在研究马铃薯块茎和生姜根茎等形成过程的相关研究取得重大的进展, 但对莲藕 (*Nelumbo nucifera* Gaertn) 的研究鲜有报道。本试验中在研究莲藕根状茎膨大过程中生理生化指标变化特征的基础上, 通过转录组测序和数字基因差异表达谱技术, 挖掘并研究与莲藕根状茎膨大相关基因, 筛选与莲藕根状茎膨大相关的基因资源, 为进一步通过基因工程手段进行分子育种奠定基础, 为研究莲藕根状茎形成的分子机理提供理论数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于 2010—2011 年在扬州大学水生蔬菜试验基地进行。供试莲藕为直链淀粉含量较高的品种美人红 (晚熟), 栽培管理同普通大田。

### 1.2 取样方法

莲藕根状茎形成过程中分 3 个时期取样: (1) 膨大初期: 即莲藕膨大的根茎只有 1 节, 且直径约为 3 cm; (2) 膨大中期: 即莲藕具有 3 节膨大的根茎, 且第 1 节直径约为 3 cm; (3) 膨大后期: 即在莲藕地上部分立叶开始枯死时。

取各个时期大小相近的 3 支根茎, 用冰盒尽快带回实验室, 立即洗净、拭干, 于冰块上分别切块、称质量, 用于测定酶活性的鲜样经液氮处理 10 min 后, 置 -80 °C 冰箱备用; 其余置 60 °C 烘箱烘至恒重制成干样备用。试验重复 3 次, 结果取 3 次重复的平均值。

### 1.3 莲藕根状茎膨大过程中干物质、可溶性糖及可溶性蛋白变化的测定

蛋白的提取方法为 TCA/丙酮法 (Hurkman & Tanaka, 2007), 蛋白定量采用 Bradford (1976)

方法；可溶性总糖含量测定参照邹琦（2000）的方法；干物质含量测定采用烘干法（袁晓华和杨中汉，1984），本试验重复 3 次，所有数据采用 SAS 软件进行分析。

1.4 转录组测序

3 个时期的材料取样后混合提取 RNA，合成 cDNA 第一条链后再加入缓冲液、dNTPs、RNase H 和 DNA 聚合酶 I 合成第二条 cDNA 链。建好的测序文库用 Illumina HiSeq™ 2000 进行测序。拼接和组装过程详见 <http://www.genomics.cn/index.php>。通过 blastx 对基因进行同源性比对，得到给定基因具有最高序列相似性的蛋白，得到该基因的蛋白功能注释信息。

1.5 利用表达谱对基因表达进行分析

本试验在膨大初期和膨大后期选取生长健壮的根状茎进行表达谱分析。利用 RNA 提取试剂盒（天根，中国）提取 6 μg 总 RNA，再利用多聚（dT）磁珠吸附纯化 mRNA，并以多聚（dT）引导反转录合成双链 cDNA。NlaIII 酶切 cDNA，利用磁珠沉淀纯化带有 cDNA 3'端的片段，将其 5'末端连接接头 1，这样就产生了带有接头 1 的标签。然后在 Tag 3'末端连接接头 2，从而获得两端连有不同接头序列的 21 bp 标签文库。

对产物经过一定的处理后采用边合成边测序法测序。测序结果上述表达谱数据库进行比对，统计每个基因对应的原始标签数，然后对原始标签数做标准化处理，获得标准化的基因表达量（<http://www.genomics.cn/index.php>）。

1.6 半定量 RT-PCR

取材、RNA 的提取及 cDNA 第一条链的合成同转录组测序对应方法相同，而不同部位的取材为莲藕开花时同一株上的花、叶片、叶柄及根状茎。

莲藕颗粒结合淀粉合成酶基因（*Lrgbss*）的引物为：上游，5'-CGTGGAGTTGATCGTGT-3'；下游，5'-AAAGGTTTGCTGCTGTT-3'；Actin 引物为：上游，5'-GACTCTGGTGATGGTGT-3'；下游，5'-CACTTCATGATGGAGTTGT-3'。莲藕根状茎贮藏蛋白基因（*Lrplp8*）引物为：上游，5'-GCGGGAGCTTCTAGTACGTT-3'；下游，5'-TTGCACAGTTGCCAGACCTT-3'。PCR 反应程序为：95 ℃ 变性 30 s；53 ℃ 退火 45 s；72 ℃ 延伸 60 s；最后 72 ℃ 10 min，整个反应共 30 个循环。

2 结果与分析

2.1 根状茎中干物质、可溶性糖和蛋白质含量的变化

为了确定表达谱测定的关键时期，对膨大初期、中期和后期根状茎中干物质，可溶性糖及可溶性蛋白含量进行了分析。结果（表 1）表明干物质含量、可溶性糖及可溶性蛋白在莲藕膨大初期和

表 1 莲藕根状茎膨大过程中干物质、可溶性糖及可溶性蛋白含量的变化

Table 1 Changes of dry substance content, soluble sugar and soluble protein content during rhizome enlarging of lotus root /%			
不同时期 Different period	干物质 Dry matter	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein
膨大初期 Initial enlarging period	5.38120 b	1.94752 b	0.85563 b
膨大中期 Middle enlarging period	6.48455 b	2.24263 b	1.77012 b
膨大后期 Later enlarging period	19.22355 a	5.96575 a	3.08701 a

注：同列相同字母表示在 0.05 水平上差异不显著。

Note: Means with in the same column followed by the same letter are not significantly differently at 0.05 level.

中期没有显著变化,表明莲藕物质的积累主要在根状茎膨大的后期,基因表达的变化可能在后期很大。

## 2.2 莲藕膨大相关基因的挖掘及数字基因差异表达谱

在莲藕根状茎膨大初期、中期及后期进行取样,挖掘与根状茎膨大相关的基因。参考前人的报道,共 86 个可能与根状茎膨大相关的基因(表 2),分成 5 类:分别为与激素诱导蛋白基因 35 个、淀粉代谢相关的基因 35 个、根状茎贮藏蛋白(Patatin)相关基因 11 个、光诱导蛋白基因 4 个及与块茎形成相关基因 1 个。

表 2 莲藕根状茎形成相关的基因及其表达  
Table 2 The genes and gene expression related to the enlarging of lotus root rhizome

基因名称 Name of gene	基因表达(后期/初期) Gene expression (Latter period/Initial period)	功能 Gene function
激素诱导蛋白基因 Hormone induced protein genes		
<i>Lrsk5</i>	- 1.70791	糖元合成酶激酶 5 Rhaggy-related protein kinase 5
<i>Lrrlk1</i>	1.69717	受体蛋白激酶 1 Receptor-like protein kinase 1
<i>Lrsnare</i>	- 1.51567	可溶性 NSF 附着蛋白 Soluable NSF attachment protein receptor
<i>Lralikp</i>	1.28874	铝诱导蛋白 Al-induced protein
<i>Lrarp</i>	1.70259	生长素诱导蛋白 Aux responsive protein
<i>Lr14-3-3p</i>	1.86784	类固醇介导信号蛋白 Steroid hormone mediated signaling protein
<i>LrNDKs</i>	1.04984	二磷酸核苷激酶 2 Nucleoside diphosphate kinase 2
<i>LrPAP</i>	- 1.9039	磷脂酸磷脂酶 Oxidoreductase
<i>Lr14-3-3p</i>	1.69442	类固醇介导信号蛋白 Steroid hormone mediated signaling protein
<i>Lr ARF16</i>	1.75488	生长素响应因子 Auxin response factor
<i>Lr F4N2.2</i>	0.72777	含有 ACT 元件蛋白 ACT domain-containing protein
<i>LrAUS22</i>	1.34127	生长素诱导蛋白 Auxin-induced protein
<i>LrSAUR</i>	1.96185	生长素诱导蛋白 Auxin-induced protein
<i>LrSGTA</i>	1.47714	含有 TPR 结构域的小的富含谷氨酰胺的蛋白 Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein A
<i>LrUPF0497</i>	- 11.40301	膜蛋白 Membrane protein
<i>LrGAST</i>	1.40232	赤霉素诱导半胱氨酸丰富蛋白 GAST-like protein
<i>LrARF-L1</i>	- 1.05301	ADP 糖基化因子 ARF-L1 protein
<i>Lrcdpk</i>	- 2.28631	钙依赖蛋白激酶 Calcium-dependent protein kinase
<i>Lrmtn21</i>	1.00571	激素诱导蛋白 Hormone-mediated protein
<i>Lrhyp</i>	- 1.24362	假设蛋白 Hypothetical protein
<i>Lrrhs</i>	1.47197	激素诱导蛋白 Response to hormone stimulus
<i>Lrtra</i>	- 1.43273	转录调控 Transcription regulator activity
<i>LrSAUR</i>	1.51571	生长素诱导蛋白 Auxin-induced protein
<i>Lraip6b</i>	2.14083	生长素诱导蛋白 Auxin-induced protein 6B
<i>Lrfbf</i>	- 1.00801	F-box 家族蛋白 F-box family protein
<i>LrMYC2</i>	- 0.43122	Myc2 蛋白 Myc2 protein
<i>LrRPK</i>	1.91882	受体蛋白激酶 Receptor-like protein kinase
<i>Lrsaur</i>	2.07208	SAUR 家族蛋白 SAUR family protein
<i>Lrlrp</i>	1.36627	侧根原基发生蛋白 Lateral root primordium protein
<i>Lrhpk</i>	- 1.28919	组氨酸蛋白激酶 Histidine protein kinase
<i>Lrpap</i>	1.47426	内质网磷酸酯磷酸化酶 ER Phosphatidate Phosphatase
<i>LrGST</i>	- 2.82689	谷胱甘肽-S-转移酶 Glutathione S-transferase
<i>LrMYB</i>	- 1.63194	MYB 转录因子 MYB transcription factor
<i>Lrcmp</i>	- 9.62205	细胞形态发生 Cell morphogenesis protein
<i>LrIAA</i>	1.39982	吲哚乙酸 3 Indole-3-acetic acid 3
光诱导蛋白基因 Light induced protein genes		
<i>LrMM2</i>	1.37196	MADS/MEF2 家族蛋白 MADS/MEF2 family protein
<i>LrMBTF</i>	0.56259	MADS 转录因子 MADS box transcription factor
<i>LrMBIP1</i>	0.69612	MADS 互作蛋白 MADS box interactor-like protein1
<i>LrMBIP2</i>	0.41821	MADS 互作蛋白 MADS box interactor-like protein2

续表 2

基因名称 Name of gene	基因表达（后期/初期） Gene expression（Latter period/Initial period）	功能 Gene function
茎块贮藏蛋白家族基因 Patatin family protein genes		
<i>Lrplp6</i>	5.11201	茎块贮藏蛋白 6 Patatin like protein 6
<i>Lrplp9</i>	3.80601	茎块贮藏蛋白 9 Patatin like protein 9
<i>Lrpfp1</i>	6.14971	茎块贮藏蛋白 Patatin family protein
<i>Lrprp</i>	7.69321	茎块贮藏蛋白 Patatin-related protein
<i>Lrpfp2</i>	8.65256	茎块贮藏蛋白 Patatin family protein
<i>Lrplp1</i>	- 8.00562	茎块贮藏蛋白 1 Patatin-like protein 1
<i>Lrplp4</i>	6.58356	茎块贮藏蛋白 4 Patatin-like protein 4
<i>Lrplp5</i>	9.25689	茎块贮藏蛋白 5 Patatin like protein5
<i>Lrplp8</i>	10.28328	茎块贮藏蛋白 8 Patatin like protein 8
<i>Lrpp</i>	8.96697	茎块贮藏蛋白 Patatin protein
<i>Lrplp2</i>	5.38239	茎块贮藏蛋白 2 Patatin-like protein 2
淀粉代谢相关基因 Starch metabolism related genes		
<i>LrssIIap</i>	1.12928	淀粉合成酶 IIa 前体 Starch synthase IIa precursor
<i>LrssIIa-2p</i>	1.12928	淀粉合成酶 IIa-2 前体 Starch synthase IIa-2 precursor
<i>Lrtgg</i>	0.65891	糖基转移酶 Transferring glycosyl groups
<i>Lrss</i>	0.65324	淀粉合成酶 Starch synthase
<i>LrssIIIp</i>	0.62988	淀粉合成酶 III 前体 Starch synthase III precursor
<i>LrssIII</i>	1.02135	淀粉合成酶 III Starch synthase III
<i>Lrss IVp</i>	0.58958	淀粉合成酶 IV 前体 Starch synthase IV precursor
<i>LrssVp</i>	- 0.02594	淀粉合成酶 V 前 Starch synthase V precursor
<i>LrssV</i>	0.58974	淀粉合成酶 V Starch synthase V
<i>LrssVI p</i>	0.96873	淀粉合成酶 VI 前体 Starch synthase VI precursor
<i>LrssVI</i>	0.56989	淀粉合成酶 VI Starch synthase VI
<i>Lrsss</i>	0.48966	可溶性淀粉合成酶 Soluble starch synthase
<i>LrsssIII</i>	0.69855	可溶性淀粉合成酶 III Soluble starch synthase III
<i>Lrsslp</i>	0.68954	淀粉合成酶相似蛋白 Starch synthase-like protein
<i>Lrsss3</i>	0.96879	可溶性淀粉合成酶 3 Soluble starch synthase 3
<i>Lrssil</i>	0.84901	淀粉合成酶异构体 I Starch synthase isoform I
<i>LrssilI</i>	0.36985	淀粉合成酶异构体 II Starch synthase isoform II
<i>LrssilIII</i>	0.56987	淀粉合成酶异构体 III Starch synthase isoform III
<i>Lrsi V</i>	0.56436	淀粉合成酶异构体 V Starch synthase isoform V
<i>Lrgbss</i>	15.98665	颗粒结合型淀粉合成酶 Granule-bound starch synthase
<i>Lrsgrb1</i>	0.63989	淀粉颗粒绑定 R1 蛋白 Starch-granule-bound R1 protein
<i>Lrsbe1</i>	3.69832	淀粉分支酶 I Starch branching enzyme I
<i>Lrsbe2</i>	5.72792	淀粉分支酶 2 Starch branching enzyme 2
<i>LrsbeII</i>	4.22542	淀粉分支酶 II Starch branching enzyme II
<i>LrsbeIII</i>	3.36983	淀粉分支酶 III Starch branching enzyme III
<i>Lrsbeip-1</i>	0.35625	淀粉分支酶互作蛋白酶 - 1 Starch branching enzyme interacting protein-1
<i>Lrsde</i>	0.69866	淀粉脱分支酶 Starch debranching enzyme
<i>Lrisa-3</i>	0.36589	异淀粉分支酶 - 3 Isoamylase-type starch-debranching enzyme 3
<i>Lrisa-1</i>	1.72792	异淀粉分支酶 - 1 Isoamylase-type starch-debranching enzyme 1
<i>Lrh</i>	- 5.69862	水解酶 Hydrolase
<i>Lrspp</i>	0.78563	淀粉磷酸化酶 Starch phosphorylase
<i>LrsppH</i>	0.85694	淀粉磷酸酶 H Starch phosphorylase type H
<i>Lrsbeip-2</i>	0.32452	淀粉分支酶互作蛋白酶 - 2 Starch branching enzyme interacting protein-2
<i>LrsrpR1</i>	0.96363	淀粉相关蛋白 R1 Starch-related protein R1
<i>Lrsex4</i>	0.04182	淀粉 excess 4 Starch excess 4
茎块形成基因 Tuberization related genes		
<i>Lrpuit</i>	0.14324	蛋白诱导的球茎形成蛋白 Protein induced upon tuberization protein

注：负数为表达下调。  
Note: Negative for express cut.

利用数字基因差异表达谱技术分析 86 个基因的表达情况 (表 2), 表达量变化最大的为茎块贮藏蛋白相关基因 (*Patatin*), 11 个家族成员中 (*Lrplp1* 除外) 有 10 个在转录水平上含量增加, 增加幅度为 3 ~ 10 倍。茎块贮藏蛋白相关基因的表达升高, 一方面增加茎块的物质含量, 同时通过调控其它生理代谢过程影响根状茎的形成。其次为淀粉合成相关基因, 5 个基因 (*Lrgbss*、*Lrsbe1*、*Lrsbe2*、*LrsbeII* 和 *LrsbeIII*) 表达水平明显升高, 尤其是 *Lrgbss*, 在根状茎膨大后期约为前期的 16 倍, 其他 4 个基因变化量在 3 ~ 6 倍之间。

从结果可以看出, 部分淀粉合成酶基因的表达、淀粉的积累和茎块的发育具有高度一致性。*Lrgbss* 的高丰度表达, 在某种程度上影响根状茎中淀粉含量, 进而影响根状茎的产量, 同时也影响根状茎的形态建成。与激素诱导蛋白相关的基因、光诱导蛋白基因及与根状茎形成相关基因在 2 个时期的变化量非常小, 在 0 ~ 2 倍之间, 因此认为根状茎贮藏蛋白相关基因和淀粉合成相关基因对莲藕根状茎的膨大作用最为明显。

### 2.3 *Lrgbss* 时空表达分析

由于 *Lrplp8* 和 *Lrgbss* 在数字基因差异表达谱中变化最大, 所以对其表达时间和表达部位进一步研究, 以验证数字基因差异表达谱结果的准确性和分析 *Lrplp8*、*Lrgbss* 与莲藕根状茎膨大的相关性。

结果表明, *Lrplp8* 和 *Lrgbss* 在莲藕根状茎膨大各个时期的表达量不同, 膨大初期表达较弱, 膨大中后期则逐渐增强。*Lrplp8* 和 *Lrgbss* 在莲藕不同部位的表达量也不同, *Lrgbss* 在叶片和根状茎中表达最强, 花和叶柄中表达最弱, 而 *Lrplp8* 在根状茎中表达量最强, 在其他器官中表达较弱, 说明 *Lrplp8* 具有器官表达特异性。

以上研究结果和数字基因差异表达谱结果相吻合, 说明无论在表达时期还是表达部位上, *Lrplp8* 和 *Lrgbss* 表达和莲藕根状茎膨大均具有高度的相关性, 暗示其对根状茎的膨大起重要作用。

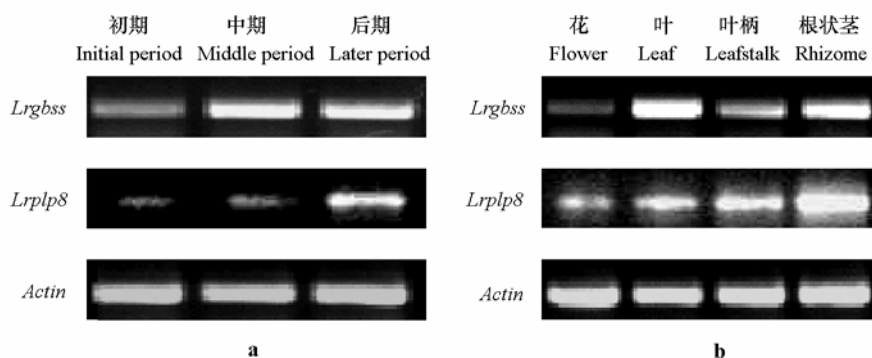


图 1 *Lrplp8* 和 *Lrgbss* 基因在莲藕根状茎膨大不同时期 (a) 和不同部位 (b) 的表达

Fig. 1 Temporal (a) and spatial (b) expression of *Lrplp8* and *Lrgbss* genes during lotus rhizome development

## 3 讨论

已有报道激素 (IAA、GA<sub>3</sub>、ABA、ZT) 及激素诱导蛋白基因、茎块贮藏蛋白基因、光诱导蛋白基因 (MADS-BOX)、淀粉以及茎块形成相关基因都和根状茎的形成相关 (Kang & Hannapel, 1996; 柯卫东 等, 2000; 柳俊和谢从华, 2001; Hirose & Terao, 2004)。而且激素 (IAA、GA<sub>3</sub>、ABA、ZT) 诱导基因、茎块贮藏蛋白基因、MADS-BOX 家族蛋白基因、淀粉以及茎块形成相关基因对马

铃薯和块茎和生姜根茎形成的重要性已得到证实, 但莲藕中还没有系统的报道。所以作者在前人研究成果基础上, 归纳并分析 86 个可能和莲藕根状茎形成相关的基因, 从数字基因差异表达谱的结果来看, 茎块贮藏蛋白相关基因 (*Lrplp6*、*Lrplp9*、*Lrpfp1*、*Lrprp*、*Lrpfp2*、*Lrplp4*、*Lrplp5*、*Lrplp8*、*Lrpp*、*Lrplp2*) 和淀粉合成相关基因 (*Lrgbss*、*Lrsbe1*、*Lrsbe2*、*LrsbeII* 和 *LrsbeIII*) 对莲藕根状茎膨大的作用最为明显, 尤其 *Lrplp8* 和 *Lrgbss*。茎块贮藏蛋白 (Patatin) 是多基因家族成员编码的贮藏蛋白, 不受激素诱导, 但受温度和光照调控, 其表达具有高度的组织特异性 (Bohac et al., 1998)。很多学者认为茎块贮藏蛋白基因的表达和茎块的形成具有高度的相关性, 并把其作为茎块形成的标志 (Park, 1990), 本试验结果与之相吻合, 说明根状茎贮藏蛋白基因对莲藕茎块的形成有较大的贡献。由于淀粉的形成和根状茎的膨大具有高度同步性, 并且淀粉的合成是茎块发育所必需的条件 (Hawker et al., 1979; Oparka & Davies, 1985)。淀粉合成量减少, 根状茎膨大程度也受到影响, 暗示淀粉在一定程度上影响根状茎的膨大 (Fu et al., 1998), 这将对今后进一步研究莲藕根状茎膨大机理奠定基础。

另外, 在试验中发现激素诱导蛋白基因、光周期诱导蛋白基因及球茎形成蛋白基因在转录水平上未发生明显变化, 其中很多基因表现出组成型表达特征, 这与人研究结果有异 (柳俊和谢从华, 2001; Hirose & Terao, 2004)。上述对莲藕根状茎形成相关重要基因的表达以及它们与根状茎膨大的特异关系有待于进一步研究。

## References

- Bohac J R, Miller J C Jr, Borque J E. 1998. Tuberization response of potato to high temperature in tissue culture system. *America Potato Journal*, 65: 471.
- Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248 - 254.
- Catchpole A H, Hillman J. 1969. Effect of ethylene on tuber initiation in *Solanum tuberosum* L. *Nature*, 223: 1387.
- Fu Y, Ballicora M A, Preiss J. 1998. Mutagenesis of the glucose-1-phosphate-binding site of potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase. *Plant Physiology*, 117: 989 - 996.
- Gao Li, Li Hong-lin, Yang Bo. 2007. Effect of basic medium and growth regulator combination on multiplication and differentiation of rhizome in *Cymbidium ensifolium* var. *susin*. *Subtropical Plant Science*, 36: 13 - 15. (in Chinese)
- 高 丽, 李洪林, 杨 波. 2007. 基本培养基与生长调节剂组合对素心建兰根状茎增殖和芽分化的影响. *亚热带植物科学*, 36: 13 - 15.
- Hawker J S, Marschner H, Krauss A. 1979. Starch synthesis in developing potato tubers. *Physiol Plant*, 46: 25 - 30.
- Hirose T, Teral T. 2004. A comprehensive expression analysis of the starch synthase gene family in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 220: 9 - 16.
- Hurkman W J, Tanaka C K. 2007. High-resolution two-dimensions gel electrophoresis: A cornerstone of plant proteomics// Samaj J. *Plant Protomics*. Berlin: Springer-Verlag: 14 - 28.
- Jefferson R, Goldsbrough A, Bevan M. 1990. Transcriptional regulation of a patatin-I gene in potato. *Plant Molecular Biology*, 14: 995 - 1006.
- Kang S G, Hannapel D J. 1996. A novel MADS-box gene of potato (*Solanum tuberosum* L.) expressed during the early stages of tuberization. *Plant Molecular Biology*, 31: 379 - 386.
- Ke Wei-dong, Huang Xin-fang, Fu Xin-fa, Zhou Guo-lin, Peng Jing. 2000. Genetic analysis of some quality and agronomic traits in *Nelumbo nucifera* gaertn. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 18: 519 - 522. (in Chinese)
- 柯卫东, 黄新芳, 傅新发, 周国林, 彭 静. 2000. 莲藕主要营养品质和农艺性状的遗传分析. *武汉植物学研究*, 18: 519 - 522.
- Kumar D, Wareing P F. 1973. Studies on tuberization on *Solanum andigena*. Evidence for the existence and movement of a specific tuberization stimulus. *New Phytologist*, 72: 283 - 287.

- Li Liang-jun, Pan En-chao, Xu Chao, Ye Zhi-rong, Cao Bei-sheng. 2006. Changes of endogenous hormones, polyamines and salicylic acid content during rhizome development of *Gelumbo nucifera* Gaertn. Acta Horticulturae Sinica, 33 (5): 1106 - 1108. (in Chinese)
- 李良俊, 潘恩超, 许超, 叶枝荣, 曹磊生. 2006. 莲藕膨大过程中内源激素、水杨酸和多胺含量的变化. 园艺学报, 33 (5): 1106 - 1109.
- Liu Jun, Xie Cong-hua. 2001. The mechanism of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber development and related gene expression. Chinese Bulletin of Botany, 18: 531 - 539. (in Chinese)
- 柳俊, 谢从华. 2001. 马铃薯块茎发育机理及其基因表达. 植物学通报, 18: 531 - 539
- Migney G A, Pikaard C S, Park W D. 1988. Molecular characterization of the patatin multigene family of potato. Gene, 62: 27 - 44.
- Okazawa Y. 1960. Studies on the relation between the tuber formation of potato plant and its natural gibberellin content. Jpn. Crop Science Society Jpn, 29: 121 - 124.
- Oparka K J, Davies H V. 1985. Variation in  $^{14}\text{C}$  partitioning in the tips of growing stolons of potato (*Solanum tuberosum* L.). Ann Bot, 55: 845 - 848.
- Park W D, Hannapel D J, Migney G A, Pikaard C S. 1985. Molecular approaches to the study of the major tuber protein // Li P H. Potato physiology. Orlando: Academic Press Inc: 261 - 278.
- Park W D. 1990. Molecular approaches to tuberization in potato // Ayda M E V, Park W D. The molecular and cellular biology of the potato. Wallingford: GAB International: 43 - 56.
- Reeve R M, Timm H, Weaver M L. 1973. Parenchyma cell growth in potato. Journal of Potato Research, 50: 71 - 78.
- Xu Chao. 2002. Study on physiological and biochemistry during rhizome enlarging of lotus root [M. D. Dissertation]. Yangzhou: Yangzhou University. (in Chinese)
- 许超. 2002. 莲藕根状茎膨大过程中生理生化变化的研究[硕士论文]. 扬州大学.
- Yuan Xiao-hua, Yang Zhong-han. 1984. Experiment of plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 袁晓华, 杨中汉. 1984. 植物生理生化试验. 北京: 高等教育出版社.
- Zheng Yong-qiang. 2004. Studies on vitro microrhizome production and its forming mechanism in zingiber officinale rose [M. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 郑永强. 2004. 生姜试管苗根状茎诱导及根状茎形成机理的研究[硕士论文]. 山东农业大学.
- Zou Qi. 2000. Experiments of plant physiology. Beijing: China Agriculture Press: 110 - 112. (in Chinese)
- 邹琦. 2000. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社: 110 - 112.

## 征 订

# 《中国蔬菜品种志》

本书由中国农业科学院蔬菜花卉研究所主编, 已于 2002 年 9 月出版发行。全书分上、下卷, 1 ~ 6 章为上卷, 包括根菜类、白菜类、芥菜类、甘蓝类、绿叶菜类及葱蒜类, 计 2 263 个品种, 1 347 页; 7 ~ 12 章为下卷, 包括瓜类、茄果类、豆类、薯芋类、水生蔬菜类和多年生蔬菜类, 计 2 550 个品种, 1 177 页。入志的品种中, 地方品种占 90% 以上, 少量在全国栽培时间较长、种植面积较大的一代杂种也选入其中。本书较全面系统而又有重点地反映了中国丰富的蔬菜品种资源概貌、研究成果及育种水平, 可供蔬菜科研、教学、生产及种子公司、农业行政单位的人员参考。本书出版后受到读者普遍好评, 现尚有少量存书, 特以优惠价格 490 元 (上、下卷) 提供给读者 (原价 980 元)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。