

# 月季扩张素蛋白基因在花朵开放过程中的表达及功能分析

刘小微, 蒋桂梅, 刘计涛, 戴凡炜, 高俊平, 张常青\*

(中国农业大学观赏园艺与园林系, 北京 100193)

**摘要:** 以切花月季 ‘Samantha’ 为试材, 明确了外层花瓣主要在花朵开放前期扩展。从花瓣中克隆鉴定了 3 个具有  $\alpha$  亚族扩张素保守特征域的基因: *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7*。在月季花朵 1~6 级的开放过程中, 3 个扩张素蛋白基因都有表达, 其中 *RhEXPA7* 的表达与花瓣快速扩展密切相关; 在 2 级花朵花瓣中 *RhEXPA5* 和 *RhEXPA6* 的表达几乎不受乙烯影响, 而 *RhEXPA7* 的表达被乙烯显著抑制。进一步利用 35S 启动子在拟南芥中过表达 *RhEXPA7*, 采用外源 ACC 处理可明显增加转基因植株幼苗的根毛密度; 转 *RhEXPA7* 基因种子萌发对 ABA 的敏感性明显降低, 而对 NaCl 的胁迫耐性明显增加。*RhEXPA7* 与月季花朵开放中花瓣快速扩展进程密切相关, 参与了乙烯信号的响应, 并可以提高过表达拟南芥的胁迫耐性。

**关键词:** 月季; 扩张素蛋白; 基因表达; 功能鉴定

**中图分类号:** S 685.12

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2014) 08-1673-09

## The Expression and Functional Analysis of Expansin Genes During Flower Opening in Cut Rose

LIU Xiao-wei, JIANG Gui-mei, LIU Ji-tao, DAI Fan-wei, GAO Jun-ping, and ZHANG Chang-qing\*

(Department of Ornamental Horticulture and Landscape Architecture, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract:** This study first investigated the different-layers of petal expansion using cut rose flowers (*Rosa hybrida*), and then cloned and identified three alpha-expansin genes with its characteristic conserved domains: *RhEXPA5*, *RhEXPA6* and *RhEXPA7*. The results showed that outer petals had the faster expansion during the early flower opening stages, while the expression of the genes were ubiquitous in most petal layers at 1 - 6 flower stages, in which *RhEXPA7* expression was most closely related to petal expansion. In stage 2 flowers, ethylene obviously suppressed the *RhEXPA7* expression, and showed less effect on *RhEXPA5* and *RhEXPA6*. Over-expression of *RhEXPA7* enhanced root hairs density of transgenic *Arabidopsis* seedlings under ACC treatment. *RhEXPA7* over-expression also decreased ABA sensitivity and increased NaCl tolerance in seed germination of transgenic lines. Taken together, *RhEXPA7* expression was closely related to petal expansion and involved in ethylene signaling response, and over-expression of *RhEXPA7* resulted in enhanced stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*.

收稿日期: 2014 - 04 - 25; 修回日期: 2014 - 07 - 05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31171992)

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

**Key words:** cut rose; expansin protein; gene expression; functional identification

月季 (*Rosa hybrida*) 具有极为丰富的花朵形态和生理代谢特性, 在花朵开放等方面已逐渐成为研究的模式材料 (Debener & Linde, 2009)。月季切花不耐贮运, 经常出现僵花、僵蕾、开放过速和开放异常等 (Jin et al., 2006)。由于花朵开放直接影响切花月季的经济价值, 因此研究花瓣开放的扩展机理意义重大。

观赏植物的花朵开放是一个精细调控的过程。在花朵开放前, 花瓣已经完成器官发生, 除少部分细胞仍然保持分裂能力外, 绝大多数花瓣细胞已停止分裂 (Martin & Gerate, 1993)。此后, 花瓣的扩展主要靠细胞体积的增大来实现 (Ma et al., 2008)。在不同物种的花朵开放过程中, 由于花瓣不同区域的细胞在扩展速率、方向上的不同, 导致了不同的花朵开放方式 (Rolland-Lagan et al., 2003)。一般认为, 在花朵开放前期 (1~2 级), 月季花瓣的表皮细胞以细胞分裂为主; 直到花朵开放后期 (2 级以后) 花瓣表皮细胞才以扩展为主 (Ma et al., 2008; Yamada et al., 2009b)。花瓣细胞的扩展依赖于细胞壁组分代谢、细胞膨压的变化和细胞骨架的重构 (Zonia & Munnik, 2007)。其中, 扩张素蛋白广泛参与细胞壁组分代谢。

扩张素蛋白是一个非常庞大的多基因家族, 在不同植物中都有广泛分布, 可以分为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\delta$  亚家族。A 和  $\beta$  亚家族是植物中存在的主要扩张素蛋白, 目前对于扩张素蛋白功能的研究也主要集中在这两个亚家族 (Cosgrove, 2000)。扩张素蛋白广泛参与植物体的各个发育过程, 包括细胞膨大、花粉管进入柱头、果实成熟软化、器官脱落、叶片形成和响应胁迫刺激等 (Cosgrove, 2000; Li et al., 2003)。扩张素蛋白也参与了不同植物的花朵开放, 如香石竹 (Song et al., 2007; Harada et al., 2011)、矮牵牛 (Zenoni et al., 2004)、唐菖蒲 (Azeez et al., 2010)、巨峰葡萄 (Ishimaru et al., 2007) 等。

有报道指出扩张素蛋白参与了月季花朵的开放 (Takahashi et al., 2007, 2009) 和花瓣脱落 (Sane et al., 2007) 的过程, 但是不同扩张素蛋白与月季花朵开放进程的关联还不清楚。本研究获得了月季切花不同  $\alpha$  亚家族扩张素蛋白基因成员, 通过对其表达分析、遗传转化等探讨了不同成员与月季花朵开放的关系和基因功能。研究结果对于探析月季花朵开放机制、扩张素蛋白基因功能等具有理论和实践意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及其处理

试验于 2011—2013 年间在中国农业大学完成。月季品种 ‘萨蔓莎’ (‘Samantha’) 切花采自北京市昌平区花卉生产基地。在温室中选取花蕾大小和形态一致、生长健壮的枝条进行标记, 分别于开花级数 1~6 级 (马男 等, 2005) 时采收, 采后置于水中 2 h 内运回实验室。在花瓣扩展面积试验中, 1~6 级花朵的最外层往里第 3~5 片花瓣为外层花瓣, 第 12~14 为中层花瓣, 第 21~23 层为内层花瓣。各层花瓣取样后, 一部分用透明胶带固定在白色纸上, 标识比例尺, 迅速扫描成图片, 用计算机识别计算面积, 花瓣样本 30 个; 另一部分花瓣用液氮冷冻保存, 用于提取 RNA 分析基因表达。

在乙烯和 1-甲基环丙烯 (1-MCP) 处理中, 取 2 级花枝剪为长 25 cm, 并留 3 片复叶, 分别插在盛有蒸馏水的容器中, 在 60 L 的密封箱子中进行  $10 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  的乙烯处理; 在 60 L 的密封箱子中, 注水至盛有 1-MCP 干粉的纸杯中, 使 1-MCP 溶解并挥发至终浓度  $2 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在处理过程中, 为防

止 CO<sub>2</sub> 的积累,箱内放置 1 mol·L<sup>-1</sup>NaOH 100 mL 溶液。密封箱置于 23~25 ℃,分别于处理 0、1、6、12、18 和 24 h 后迅速取花瓣液氮速冻,保存于 -80 ℃ 的超低温冰箱中备用。每次取 10 枝花。

拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 为本实验室保存。大肠杆菌 (*E. coli*) 菌株 DH5α、农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 菌株 GV3101 为本实验室保存。

## 1.2 扩张素蛋白基因的克隆和序列分析

根据实验室前期的 cDNA 文库中 3 个扩张素蛋白的基因片段序列: JK618328、JK617882 和 JK619325,设计克隆引物。基因的 3'序列使用锚定 3'-RACE (rapid-amplification of cDNA ends) 方法获得;5'序列使用 5'-RACE 的方法获得,全长序列使用 Primer Star 高保真酶 (TaKaRa, Japan) 校准。克隆过程中使用的载体是 T-easy (Promega, USA),引物合成和测序均由三博远志生物公司完成。多重序列比对使用 DNAMAN 软件,系统发育和分子进化分析使用软件 ClustX 和 MEGA5.0。

## 1.3 扩张素蛋白类基因的表达分析

不同层级花瓣样品和乙烯、1-MCP 处理的 2 级花朵花瓣总 RNA 分别提取后,利用 Powerscript reverse transcriptase (Clontech) 反转录成 cDNA。选择 *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7* 基因的非保守区设计特异引物 (表 1),用于半定量 RT-PCR 分析。扩增条件: 94 ℃ 预变性 5 min; 然后 94 ℃ 变性 30 s, 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 30 个循环; 最后 72 ℃ 延伸 10 min。选择月季的泛素基因 *RhUBI1* 作为 RT-PCR 内标。PCR 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶进行分离后用 GoldView<sup>TM</sup> 染料染色观察照相,同时条带用 Alpha Ease FC<sup>TM</sup> 2200 (Alpha Innotech, Version 3.2.1) 软件分析。每个时间点样本均设 3 次生物学重复。

表 1 扩张素蛋白基因表达检测引物  
Table 1 Primers of expansin genes for RT-PCR analysis

编号 No.	基因引物 Primer	引物序列 Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature
1	<i>RhEXPA5-F</i>	5'-ATGGCTCTTACTTCATGCTTAGC-3'	58
2	<i>RhEXPA5-R</i>	5'-GACTGCCTGAAAATGTTTGACC-3'	
3	<i>RhEXPA6-F</i>	5'-TGGCAGCTTCAGCATTGTCTCT-3'	60
4	<i>RhEXPA6-R</i>	5'-TTGACCCCTTGGTAAGTCTGG-3'	
5	<i>RhEXPA7-F</i>	5'-ATGGCTTCTTTGGGGATTCTTCT-3'	58
6	<i>RhEXPA7-R</i>	5'-CTTCCTGTGTATGTCTGACCAAATG-3'	
7	<i>RhUBI1-F</i>	5'-GCTGCTATTCGCCAGAAAGGA-3'	59
8	<i>RhUBI1-R</i>	5'-TCAGGACGAGCACTTCCAGATG-3'	

## 1.4 *RhEXPA7* 遗传转化拟南芥和转基因植株耐性分析

将 *RhEXPA7* 的 ORF 区域从包含全长 cDNA 的质粒上扩增下来,然后用上、下游分别加了 *Xba* I 和 *Bam*H I 的特异引物扩增 *RhEXPA7* 的 ORF 区域。PCR 产物经过 *Xba* I 和 *Bam*H I 酶切后连入 pBIG 载体。构建好的重组质粒被转化到农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) GV3101 中,用花序浸蘸法浸染培养好的拟南芥 (Clough, 1998)。拟南芥培养使用的基质是 1:1 混合的草炭和蛭石;植株放在 23 ℃、16 h/8 h 光照条件下培养。植株成熟后收集种子利用抗生素筛选阳性植株,选取叶片提取 RNA,反转录后利用 RT-PCR 验证得到转基因株系。选择株系 OE#4 和 OE#6,进一步筛选得到 T3 代纯合体进行转基因植株表型分析。

ACC 处理幼苗:将野生型、载体对照、过表达株系 OE#4 和 OE#6 的种子播种在 MS 培养基上,

10 d 后将幼苗转移到含 0、10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ACC 的竖直培养板上, 7 d 后进行拍照分析。种子萌发试验: 将野生型、载体对照、过表达株系 OE#4 和 OE#6 的种子分别播种在添加了 0、0.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ABA 和 125  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 的 MS 培养基上, 在 4  $^{\circ}\text{C}$  下暗培养 3 d 后, 取出在 23  $^{\circ}\text{C}$ 、16 h/8 h 光照条件下培养 15 d 后观察拍照和统计种子萌发率。

## 2 结果与分析

### 2.1 月季花朵开放过程中不同层花瓣扩展变化

为了明确月季花朵开放过程中不同层花瓣扩展的速率, 分别测定了 1~6 级的花朵外层、中层和内层花瓣的面积。结果 (图 1) 表明, 外层花瓣在 1~3 级扩展迅速, 在 3 级时就达到 24.3  $\text{cm}^2$ , 相对 1 级花瓣扩展了 4.3 倍; 之后花瓣面积增加缓慢, 从 3 级到 6 级花瓣面积只增加了约 10%。中层和内层花瓣 1~5 级基本呈匀速扩展, 5~6 级扩展面积达到最大; 中层和内层分别达到 22.1  $\text{cm}^2$  和 16.6  $\text{cm}^2$ 。综上, 月季花朵开放前期, 外层、中层和内层花瓣扩展速率依次降低; 在开放后期, 只有内层花瓣面积依然呈现扩展。

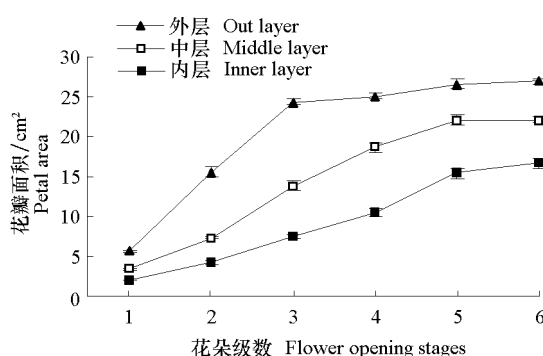


图 1 月季花朵开放过程中不同层花瓣面积扩展变化

Fig. 1 The changes in petal areas in different layers during rose flower opening

### 2.2 月季扩张素基因全长克隆和蛋白同源性比较

在前期构建的月季花朵 cDNA 数据库 (Dai et al., 2012) 中, 发现了 3 个不同的  $\alpha$  亚族的扩张素基因片段, 序列号分别为 JK618328、JK617882 和 JK619325。本试验中进一步克隆了 3 个基因的全长, 分别命名为: *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7*, 其开放阅读框 (open reading frame, ORF) 长度分别为 762、756 和 729 bp, 分别编码具有 253、252 和 241 个氨基酸的扩张素蛋白。用 DNAMAN 软件对氨基酸序列进行比对发现, 月季的这 3 个扩张素蛋白基因与拟南芥、烟草、葡萄、草莓、棉花、杨树和樱桃等物种的  $\alpha$  亚族具有较高的相似性。*RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7* 除了具有在 N 端一个约 40 个氨基酸的信号肽外, 都具有  $\alpha$  亚族的扩张素蛋白的两个典型特征保守域: Glycoside hydrolase family 45 (GH45) 的催化域和 Group-2 grass pollen allergens 1 域 (图 2)。

进一步用 MEGA 5.0 软件绘制了包含 *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7* 以及拟南芥 29 个  $\alpha$  亚族的扩张素蛋白的系统进化树 (图 3), 可以看出, 月季的 3 个扩张素蛋白都属于拟南芥  $\alpha$  亚族的扩张素蛋白的同一个亚组。*RhEXPA5* 和 *RhEXPA6* 与 *AtEXP8* 同源性高, 而 *RhEXPA7* 与 *AtEXP5* 同源性最相近。

### 2.3 月季扩张素基因在花朵不同层花瓣中的表达

月季花朵开放依赖于花瓣细胞的扩展。为了研究 *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7* 基因与花朵开放的关系, 首先检测了在花朵开放过程中, 3 个基因在花朵 1~6 级外层、中层和内层花瓣中的表达。结果 (图 4) 表明, 在月季花朵从 1 级到 6 级的开放衰老过程中, 这 3 个基因在不同层级花瓣中的表达模式不同。*RhEXPA5* 在 1~5 级花朵外层、中层、内层花瓣中 1~5 级都有表达, 只有在花朵衰老的 6 级花瓣表达明显减弱; *RhEXPA6* 在各层花瓣中表达量相对最高, 在花朵各个级别中都有

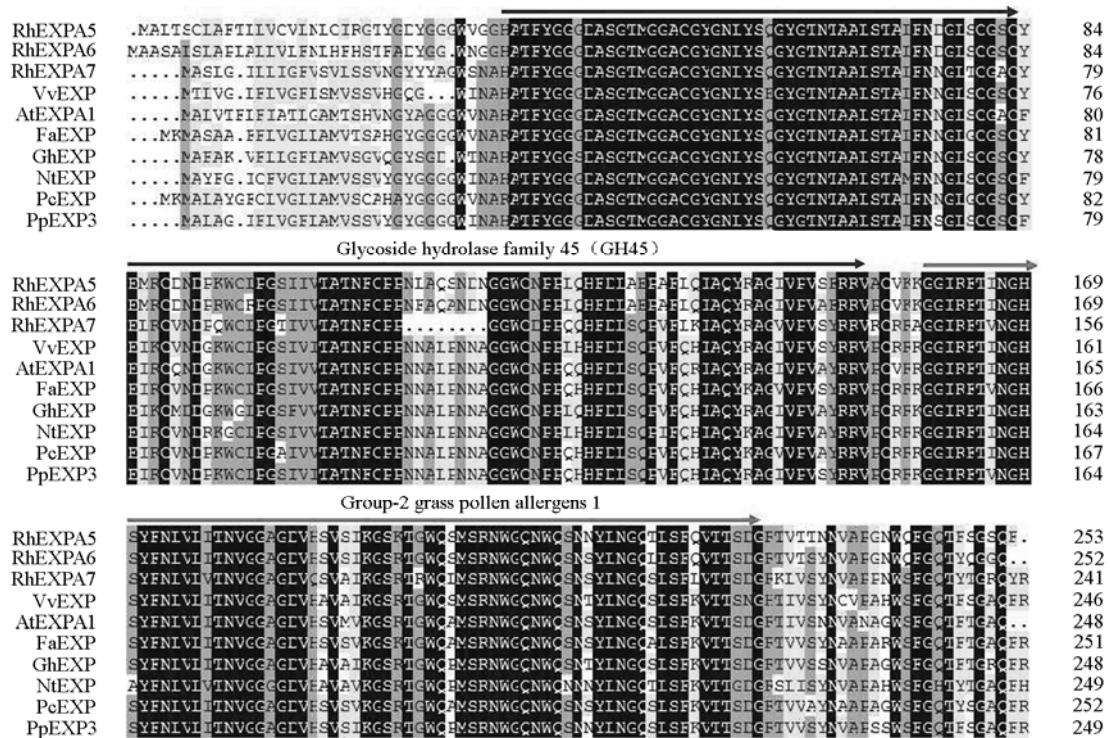


图2 *RhEXPA5*、*RhEXPA6*、*RhEXPA7* 基因的推测蛋白序列和其他物种的 expansin 蛋白的序列比对

VvEXP: 葡萄, BAC66694; AtEXPA1: 拟南芥, XP\_002887242; FaEXP: 草莓, ABA62612; GhEXP: 棉花, AAM47002; NtEXP: 烟草, AAC96080; PcEXP: 樱桃, AAL40354; PpEXP3: 杨树, AAR09170。划线区域表示  $\alpha$  亚族 expansin 蛋白的两个保守域。

Fig. 2 Alignment of the deduced amino acid sequence of *RhEXPA5/6/7* with that of expansin proteins from other plants

VvEXP: Grape, BAC66694; AtEXPA1: *Arabidopsis*, XP\_002887242; FaEXP: Strawberry, ABA62612; GhEXP: Cotton, AAM47002; NtEXP: Tobacco, AAC96080; PcEXP: Cherry, AAL40354; PpEXP3: Poplar, AAR09170.

Lines indicate the two conserved domains of  $\alpha$ -expansin proteins.

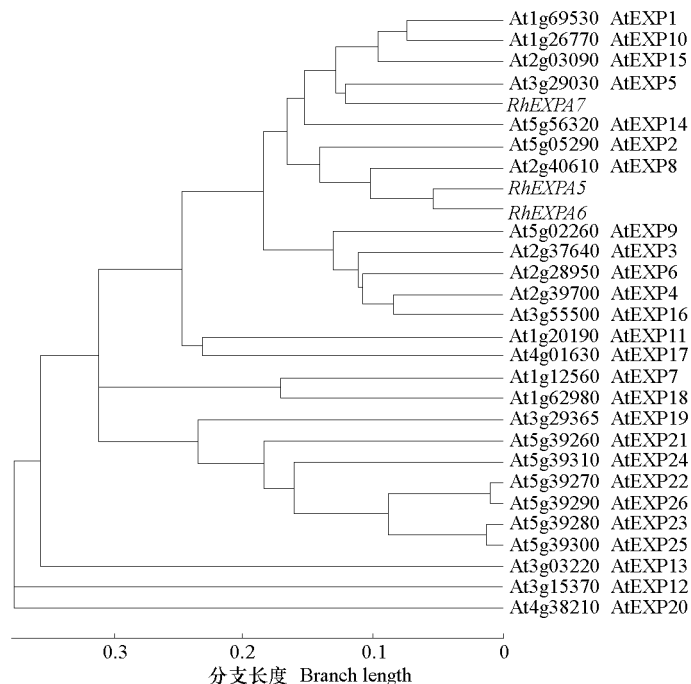


图3 *RhEXPA5/6/7* 推测的蛋白序列和拟南芥  $\alpha$  类扩张素家族蛋白的进化树分析

Fig. 3 Phylogenetic comparison of *RhEXPA5/6/7* with *Arabidopsis*  $\alpha$ -expansin proteins

明显表达;而 *RhEXPA7* 在花朵开放前期的快速扩展的花瓣中明显表达,如外层的 1~3 级花瓣和内、中层的 1~4 级花瓣,在开放后期的花瓣中表达量迅速减弱。因此,推测 *RhEXPA7* 的表达与花瓣快速扩展密切相关。

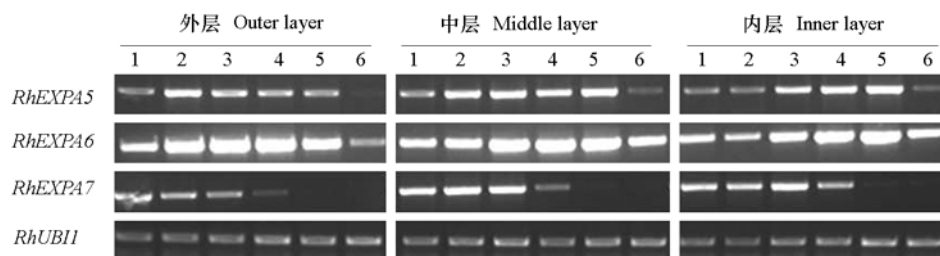


图 4 月季花朵开放过程中不同层花瓣 *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7* 基因的表达

Fig. 4 Expression of expansin genes in different layers petal during rose flower opening

进一步分析 *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7* 在乙烯处理条件下的表达,结果发现乙烯和乙烯作用抑制剂 1-MCP 处理没有明显改变 2 级花朵花瓣中 *RhEXPA5* 和 *RhEXPA6* 的表达;但是乙烯处理 6 h 后明显抑制了 *RhEXPA7* 的表达,1-MCP 处理维持了 *RhEXPA7* 的表达水平(图 5)。由此推测, *RhEXPA7* 参与了乙烯抑制花瓣扩展的进程。

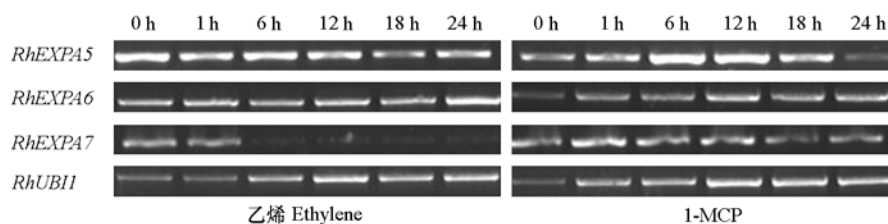


图 5 乙烯处理 2 级花朵花瓣中 *RhEXPA5*、*RhEXPA6* 和 *RhEXPA7* 基因的表达

Fig. 5 Expression of *RhEXPA5*, *RhEXPA6*, *RhEXPA7* genes in petals of stage 2 roses under the ethylene treatment

## 2.4 *RhEXPA7* 过表达转化拟南芥的功能分析

为了分析 *RhEXPA7* 的功能,利用 35S 组成型启动子构建 *RhEXPA7* 的过表达载体转化了拟南芥。用 RT-PCR 检测了 8 个拟南芥转基因阳性植株中外源 *RhEXPA7* 的表达水平,结果(图 6)表明, *RhEXPA7* 基因整合进拟南芥基因组并成功表达。进一步选取获得转基因株系 OE#4 和 OE#6 的 T3 纯合体,分别研究了其对外源 ACC、ABA 和 NaCl 处理的响应。用  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ACC 处理 10 d 的幼苗,与 WT 和载体对照比较,ACC 明显增加了 *RhEXPA7* 转基因植株的根毛密度(图 7)。在转基因株系种子萌发试验中,所有种子在 MS 的培养基上都 100% 萌发;在  $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ABA 和  $125 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理下,种子萌发受到抑制,而且 *RhEXPA7* 转基因

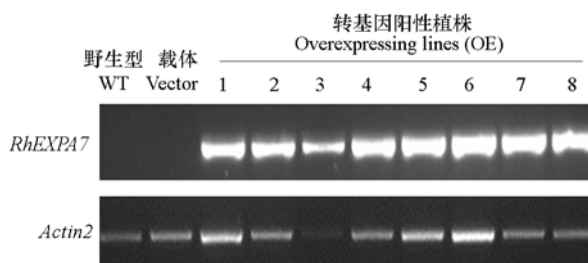


图 6 *RhEXPA7* 基因在不同过表达株系中的表达量

Fig. 6 *RhEXPA7* expression in overexpressing *Arabidopsis* lines

因植株的种子萌发也要明显好于野生型和载体植株的种子（图 8）。上述结果表明，*RhEXPA7* 基因参与乙烯信号对植物生长的影响；*RhEXPA7* 基因过表达拟南芥也可以增加转基因植株对胁迫的耐性。

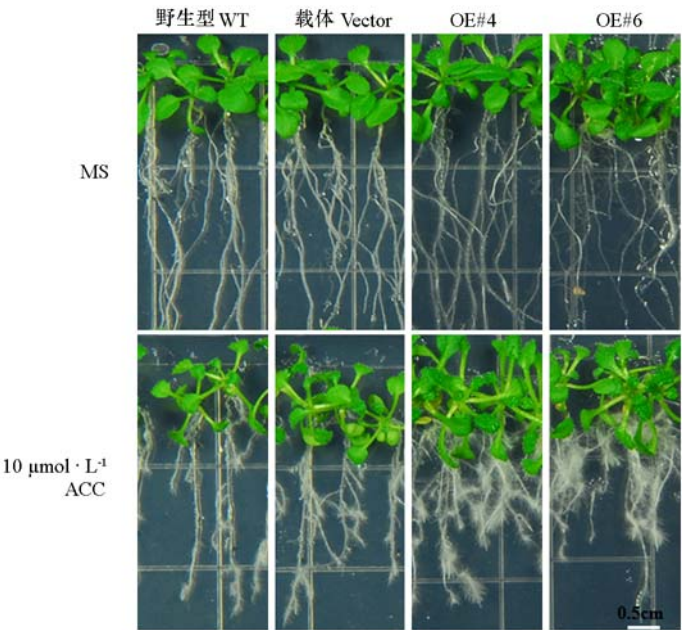


图 7 ACC 处理下 *RhEXPA7* 过表达拟南芥的表型

在 MS 培养基上生长 10 d 的植株转移到含有  $10\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ACC 的竖直培养板上，生长 7 d 后拍照。

Fig. 7 Phenotypes of *RhEXPA7*-overexpressing *Arabidopsis* under ACC treatment

Ten-day-old seedling were transferred to MS medium containing  $10\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ACC for 7 days, then the phenotypes were photographed.

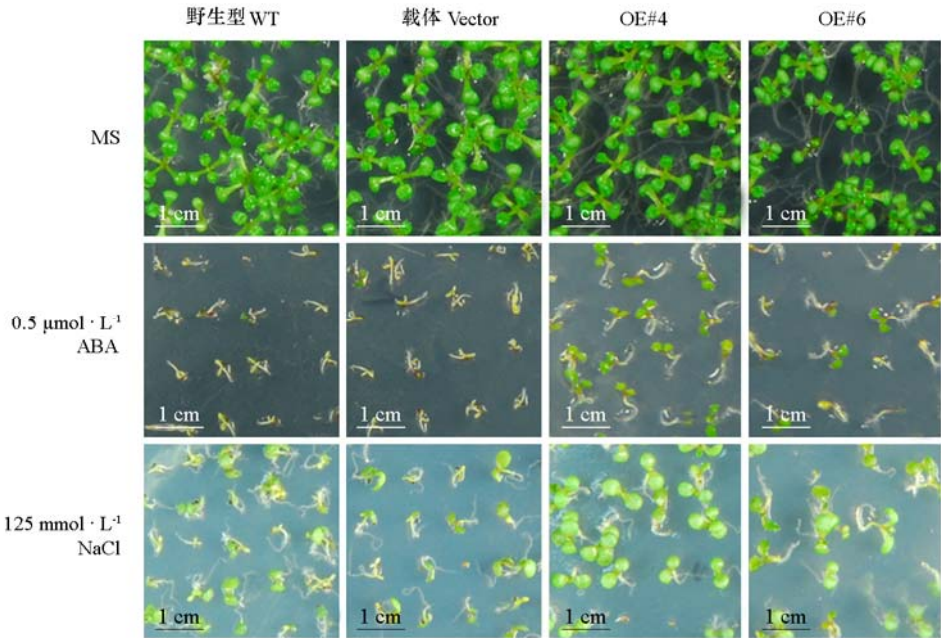


图 8 *RhEXPA7* 转基因拟南芥在 ABA 和 NaCl 处理下种子萌发

Fig. 8 Seed germination of *RhEXPA7* overexpressors under ABA and NaCl stresses

### 3 讨论

月季、香石竹等的花朵不同层花瓣的扩展、衰老等有差异,如香石竹的外层花瓣就比内层提前衰老(Wulster et al., 1982)。本研究中也发现月季外层花瓣在花朵开放前期完成了主要的扩展(图1)。扩张素类蛋白 expansin 最早是 McQueen-Mason (1992) 从黄瓜幼苗下胚轴伸长区中分离纯化出的一种细胞壁特异性蛋白,可以诱导热钝化的离体细胞壁恢复伸展。扩张素蛋白基因广泛参与了植物不同的生长发育进程,如细胞生长(Rochange et al., 2001)、叶片伸展(Cho & Cosgrove, 2000)、果实成熟(Brummell et al., 1999)、器官脱离(Cho & Cosgrove, 2000; Sane et al., 2007)和植物响应逆境胁迫(Maddala & Wu, 1999; Xu et al., 2007; Kwon et al., 2008)等。

前人曾就香石竹和唐菖蒲扩张素蛋白基因参与花朵开放和花瓣发育进行了研究和报道(Azeez et al., 2010; Harada et al., 2011)。本研究分离到了3个扩张素蛋白基因,具有两个典型的 $\alpha$ 亚族扩张素蛋白保守特征结构域(图2,图3)。*RhEXPA5/6/7*在不同层级花瓣中都有表达,其中*RhEXPA7*与花瓣的扩展关联最密切(图4,图5)。月季切花 $\alpha$ 类扩张素蛋白基因*RhEXPA1*主要集中在花朵开放的4~6级表达;而*RhEXPA2*随花朵开放进程,表达受到抑制(Takahashi et al., 2007; Yamada et al., 2009a)。本研究结果表明不同的 expansin 成员与月季开放过程中的花瓣扩展关联有差异;这种差异在乙烯抑制扩展的花瓣中也得到了验证。

扩张素蛋白基因在植物不同的生长发育过程、植物胁迫耐性中起作用。如扩张素蛋白通过调节细胞的生长和扩展而影响了玉米、复苏植物和小麦等失水胁迫耐性(Jones & McQueen-Mason, 2004)。本研究发现 ACC 处理下的转*RhEXPA7*拟南芥根毛密度增加(图7)。结合乙烯抑制二级花瓣*RhEXPA7*的表达,表明*RhEXPA7*参与了乙烯信号的响应。同时,*RhEXPA7*转基因植株在 ABA 和 NaCl 处理下的种子萌发率也明显优于对照(图8)。这个结果表明,*RhEXPA7*过表达拟南芥也可以增加转基因植株的胁迫耐性。一般而言,失水胁迫增加细胞壁收缩的能力而伤害了细胞。在干旱胁迫下,拟南芥叶片通过折叠细胞壁增加细胞壁的延展性来减少干旱所带来的伤害(Jones & McQueen-Mason, 2004)。这可能是因为在胁迫条件下,过表达的扩张素蛋白基因可以增加细胞壁的折叠性,通过提高细胞壁的延展性来减少胁迫带来的伤害。而关于不同扩张素蛋白基因在细胞扩展过程中作用机制的差别,还有待进一步的比较研究。

### References

- Azeez A, Sane A P, Tripathi S K, Bhatnagar D, Nath P. 2010. The gladiolus *GgEXPA1* is a GA-responsive  $\alpha$ -expansin gene expressed ubiquitously during expansion of all floral tissues and leaves but repressed during organ senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 58: 48–56.
- Brummell D A, Harpster M H, Civello P M, Palys J M, Bennett A B, Dunsmuir P. 1999. Modification of expansin protein abundance in tomato fruit alters softening and cell wall polymer metabolism during ripening. *The Plant Cell*, 11: 2203–2216.
- Cho H T, Cosgrove D J. 2000. Altered expression of expansin modulates leaf growth and pedicel abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (17): 9783–9788.
- Clough S J, Bent A F. 1998. Floral dip: A simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, 16 (6): 735–743.
- Cosgrove D J. 2000. Loosening of plant cell walls by expansions. *Nature*, 407 (802): 321–326.
- Dai F W, Zhang C Q, Jiang X Q, Kang M, Yin X, Lü P T, Zhang X, Zheng Y, Gao J P. 2012. *RhNAC2* and *RhEXPA4* are involved in the regulation of dehydration tolerance during the expansion of rose petals. *Plant Physiology*, 160 (4): 2064–2082.
- Debener T, Linde M. 2009. Exploring complex ornamental genomes: The rose as a model plant. *Critical Reviews in Plant Science*, 28: 267–280.
- Harada T, Torii Y, Morita S, Onodera R, Hara Y, Yokoyama R, Nishitani K, Satoh S. 2011. Cloning, characterization, and expression of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase and expansin genes associated with petal growth and development during carnation flower opening. *Journal of*

- Experimental Botany, 62 (2): 815 – 823.
- Ishimaru M, Smith D L, Gross K C, Kobayashi S. 2007. Expression of three expansin genes during development and maturation of Kyoho grape berries. Journal of Plant Physiology, 164 (12): 1675 – 1682.
- Jin J S, Shan N W, Ma N, Bai J H, Gao J P. 2006. Regulation of ascorbate peroxidase at the transcript level is involved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Samantha. Postharvest Biology and Technology, 40: 236 – 243.
- Jones L, McQueen-Mason S. 2004. A role for expansins in dehydration and rehydration of the resurrection plant (*Craterostigma plantagineum*). FEBS Letters, 559 (1): 61 – 65.
- Kwon Y R, Lee H J, Kim K H, Hong S W, Lee S J, Lee H. 2008. Ectopic expression of *Expansin3* or *Expansinβ1* causes enhanced hormone and salt stress sensitivity in *Arabidopsis*. Biotechnology Letters, 30 (7): 1281 – 1288.
- Li Y, Jones L, McQueen-Mason S. 2003. Expansins and cell growth. Current Opinion in Plant Biology, 6 (6): 603 – 610.
- Ma N, Xue J Q, Li Y H, Liu X J, Dai F W, Jia W S, Luo Y B, Gao J P. 2008. *Rh-PIP2;1*, a rose aquaporin gene, is involved in ethylene-regulated petal expansion. Plant Physiology, 148: 894 – 907.
- Ma Nan, Cai Lei, Lu Wang-jin, Tan Hui, Gao Jun-ping. 2005. Exogenous ethylene influences flower opening of cut roses (*Rosa hybrida*) by regulating the genes encoding ethylene biosynthesis enzymes. Science in China: Series C, 35 (2): 104 – 114. (in Chinese)
- 马 男, 蔡 蕾, 陆旺金, 谭 辉, 高俊平. 2005. 外源乙烯对月季 (*Rosa hybrida*) 切花花朵开放的影响与乙烯生物合成相关基因表达的关联. 中国科学: C 辑, 35 (2): 104 – 114.
- Maddala G S, Wu S. 1999. A comparative study of unit root tests with panel data and a new simple test. Oxford Bulletin of Economics and Statistics, 61 (S1): 631 – 652.
- Martin C, Gerate T. 1993. Control of pigment biosynthesis genes during petal development. Plant Cell, 5 (10): 1253 – 1264.
- McQueen-Mason S, Durachko D M, Cosgrove D J. 1992. Two endogenous proteins that induce cell wall extension in plants. The Plant Cell Online, 4 (11): 1425 – 1433.
- Rochange S F, Wenzel C L, McQueen-Mason S J. 2001. Impaired growth in transgenic plants over-expressing an expansin isoform. Plant Molecular Biology, 46 (5): 581 – 589.
- Rolland-Lagan A G, Bangham J A, Coen E. 2003. Growth dynamics underlying petal shape and asymmetry. Nature, 422 (6928): 161 – 163.
- Sane A P, Tripathi S K, Nath P. 2007. Petal abscission in rose (*Rosa bourboniana* var. Grussan Teplitz) is associated with the enhanced expression of an alpha expansin gene, *RbEXPA1*. Plant Science, 172 (3): 481 – 487.
- Song L L, Wang Y, Lu W J, Wu G J, Jiang Y M, Gao H Y. 2007. Differential expressions of expansin and xyloglucan endotransglucosylase genes by adenosine triphosphate of cut carnation flowers during senescence. International Journal of Agricultural Research, 2 (11): 945 – 951.
- Takahashi R, Fujitani C, Yamada K, Ochiai M, Takagaki N. 2009. Role of expansin and XTH during rose flower opening. V International Symposium on Rose Research and Cultivation, 870: 273 – 278.
- Takahashi R, Fujitani C, Yamaki S, Yamada K. 2007. Analysis of the cell wall loosening proteins during rose flower opening. International Conference on Quality Management in Supply Chains of Ornamentals, 755: 483 – 488.
- Wulster G, Sacalis J, Janes H W. 1982. Senescence in isolated carnation petals effects of indoleacetic acid and inhibitors of protein synthesis. Plant Physiology, 70 (4): 1039 – 1043.
- Xu J, Tian J, Belanger F C, Huang B R. 2007. Identification and characterization of an expansin gene *AsEXPI* associated with heat tolerance in C3 Agrostis grass species. Journal of Experimental Botany, 58 (13): 3789 – 3796.
- Yamada K, Norikoshi R, Suzuki K, Nishijima T. 2009a. Cell division and expansion growth during rose petal development. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 78: 356 – 362.
- Yamada K, Takahashi R, Fujitani C, Mishima K, Yoshida M, Joyce D C, Yamaki S. 2009b. Cell wall extensibility and effect of cell-wall-loosening proteins during rose flower opening. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 78 (2): 242 – 251.
- Zenoni S, Reale L, Tornielli G B, Lanfaloni L, Porceddu A, Ferrarini A, Moretti C, Zamboni A, Speghini A, Ferranti F, Pezzotti M. 2004. Downregulation of the petunia hybrid  $\alpha$ -expansin gene *PhEXPI* reduces the amount of crystalline cellulose in cell walls and leads to phenotypic changes in petal limbs. The Plant Cell, 16: 295 – 308.
- Zonia L, Munnik T. 2007. Life under pressure: Hydrostatic pressure in cell growth and function. Trends in Plant Science, 12: 90 – 97.