

转座子在观赏植物嵌合花色形成中的应用

李军¹ 李洪清² 吴萍¹ 李美茹^{1,*}

¹中国科学院华南植物园, 广州 510650; ²华南师范大学生命科学学院, 广州 510631

Application of Transposons in Making Variegated Flower Color in Ornamental Plants

LI Jun¹, LI Hong-Qing², WU Ping¹, LI Mei-Ru^{1,*}

¹South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

摘要 介绍了转座子与嵌合花色形成的关系以及用基因工程操作改良花色的方法, 着重介绍采用转座子构建特殊表达载体, 随机激活花色合成的基因产生嵌合花色的技术和前景。

关键词 嵌合花色; 基因工程; 转座子

广义的花色是指显花植物(主要具显眼花的被子植物)花器官中一切花瓣状结构的颜色(花器官除花瓣外的结构: 如花萼、雄蕊、雌蕊、苞片等均可发生“瓣化”并具颜色), 狭义的花色仅指花瓣的颜色^[1,2]。绚丽多彩的花色是构成大自然的重要素, 也是人们精神文化生活的重要组成部分。目前已知, 植物的花色主要由类黄酮、类胡萝卜素、生物碱三类物质决定。类黄酮存在于液泡内, 分为花青素、异黄酮和黄烷醇等, 花中大部分红、蓝、紫和红紫等颜色均由此类色素所决定。类胡萝卜素存在于质体内, 如产生月季、水仙、郁金香、百合等的黄色及橙色。生物碱类色素有小檗碱、罂粟碱、甜菜碱等, 小檗碱使小檗属植物呈深黄色, 罂粟碱使罂粟属和绿绒蒿属植物呈黄色, 甜菜碱是酪氨酸衍生出来的黄色到红色氮化合物, 主要存在于石竹属植物中^[3~6]。

自然界花色种类繁多, 但一些重要花卉的色彩不全, 如月季、郁金香、康乃馨缺少蓝色和紫色, 非洲紫罗兰、仙客来、天竺葵、矮牵牛缺少纯黄色, 鸢尾、紫罗兰等缺少红色和砖红色, 这些都是传统杂交育种技术无法解决的问题^[7]。花色基因工程技术由于具有可以打破物种间不亲和的限制、定向改造特定性状而且不影响其它性状、大大缩短新品种选育时间等特点而成为当今花卉育种的新技术、新方向^[7,8]。本文讨论

转座子与嵌合花色形成的关系, 介绍目前花色基因工程中常用的方法, 着重介绍利用转座子构建特殊表达载体, 随机激活花色合成的基因产生嵌合花色的技术和应用前景。

1 转座子与嵌合花色

嵌合花色具有很高的观赏和商业价值, 了解嵌合花色的成因将有助于人为控制、创造嵌合花色。影响产生嵌合花色的因子十分复杂, 如病毒病、质体发育不正常、染色体畸变和转座子等因子^[9], 前3个因子多与嵌合叶色的形成有关, 转座子因子则多与嵌合花色形成密切相关。

转座子是基因组中一段可移动的DNA序列, 可以通过切割、重新整合等一系列过程从基因组的一个位置“跳跃”到另一个位置。它的特性是既具有跳动性, 又具有控制其它基因开闭的作用。转座子最早是美国的玉米遗传学家McClintock^[10]在玉米中发现的, 以后陆续在矮牵牛(*Pharbitis nil*)、金鱼草(*Antirrhinum majus*)、飞燕草(*Consolida ajacis*)等35种植物中也证实了转座子的存在^[11]。转座子可以分为两大类: 以DNA-DNA方式转座的转座子和由RNA介导转座的反转

收稿 2004-11-09 修订 2005-04-12

资助 广东省自然科学基金(31267)。

*通讯作者(E-mail: limr@scbg.ac.cn, Tel: 020-37252590)。

录转座子。转座子最重要的遗传效应是引起插入突变,即使插入位置的基因失活,并诱导产生突变型。因此,目前多采用转座子标记引起插入突变来分离基因,如玉米的3个家族的转座子 *Ac*、*Spm* 和 *Mu* 均广泛用于标记分离基因^[12~14]。

由转座子产生的嵌合花色的显现具有不规则性和回复突变性等特征。最初由 McClintock 发现转座子的实验材料是玉米,此种材料的籽粒和叶呈现颜色的变化,颜色遗传很不稳定。这种颜色变化是由于花色素苷基因表达的开闭引起的。*SG* 是一个产生紫色色素的结构基因,它附近的一个控制因子 *DS*(被称为离解因子或分化变异因子)以一定的速率关闭 *SG*,以致玉米籽粒不能产生紫色色素,而成为黄色。*DS* 从 *SG* 附近跳开,*SG* 所受的控制作用即被解除,玉米籽粒又变成紫色。而 *DS* 跳到远离 *AC* 处,或者 *AC* 本身跳开,*DS* 即不受 *AC* 的控制,它又可以发挥对结构基因 *SG* 的抑制作用,使玉米籽粒成为黄色。由于转座子跳动的特性,使得受它们控制的颜色基因时关时开,于是玉米籽粒便出现了斑斑点点嵌合色。高粱(*Sorghum bicolor*)中,*Y* 基因控制种皮红色色素的产生,由于转座子 *Cs1* 插入 *Y* 的第2个内含子后,抑制了 *Y* 基因的表达,因而红色色素合成受阻,种皮即呈白色。红色斑纹的形成是由于转座子 *Cs1* 割离 *Y* 基因、*Y* 基因表达的产物,结果种子的种皮呈现白红相间的条纹^[15]。

在转座子与花瓣嵌合色形成关系的研究中,日本的 Iida 等^[16]曾以日本矮牵牛(*Ipomoea nil*)为材料做了大量的工作。日本牵牛花色繁多,嵌合花色图案和颜色繁杂多变,他们认为这是由于转座子影响编码花色素苷基因的表达所引起的。一般而言,这些自主突变体可分为两类:一类是花瓣体细胞等位基因再发生突变,即突变的等位基因从隐性的白色再变为呈颜色的回复等位基因。这类突变的花瓣多为白色,在白色上分布着带有颜色的点状或纹斑,斑点或纹的产生是由于转座子割离色素基因引起的。另一类是在花芽时等位基因就发生回复突变,这类突变的花瓣则完全着色。*flecked* 株系的 *DFR-B* 基因控制花、茎和叶的色素合成,其花、茎和叶片均有彩斑,花颜色为带有砖红色斑点或块的白色,白颜色是由于 *Tpn1* 转座子插入 *DFR-B* 基因引起的,有颜色的斑纹是体细胞回复突变引起的^[17]。*specked* 株系的花

则是带有小圆点的淡黄色花瓣,这是由于转座子 *Tpn2* 插入 *CHI* 引起的^[18]。*r-1* 突变株产生带有小斑点的白色花则是与转座子 *Tpn3* 插入 *CHS-D* 有关^[16]。*purple* 株系的花为紫色,由于转座子 *Tpn4* 插入编码液泡膜 Na^+/H^+ 反向传递体基因(*InNHX1*),影响液泡 pH 值,致使突变细胞呈蓝色,因此,嵌合色的花瓣为紫色中带有蓝色条纹^[19,20]。圆叶牵牛(*I. purpurea*)中的 *pink* 株系,由于转座子 *Tip201* 插入 *F3'H* 基因,花突变为带有红色斑点或纹的白花^[16]。*flaked* 突变株系嵌合花色是由于插入 *CHS-D* 的内含子的 *Tip100* 割离该基因引起的^[16]。*Tpn1*、*Tpn2*、*Tpn3*、*Tpn4* 和 *Tip201* 均为非自主性的转座子。康乃馨品种 *Rhapsody*, 花为带有红色斑块的白色花,白色组织的产生是由于转座子 *dTdic1* 插入 *DFR* 造成的,红色斑块则是该转座子割离 *DFR* 引起的;那些产生带有白色斑块的黄花则是与 *dTdic1* 插入 *CHI* 和 *DFR* 有关^[21]。彩斑点或纹的产生并不完全都是由于转座子割离色素基因引起的,如产生嵌合花色的三色牵牛(*I. tricolor*) *pearly-vrg* 株系,花瓣嵌合色的产生不是由于插入到 *DFR-B* 启动子 *ItMULE1* 割离 *DFR-B* 基因引起的,而是与在邻近插入位点的碱基发生甲基化有关,*pearly-vrg* 等位基因可能是个超等位基因(epiallele)^[16]。

2 花色改良的方法

在了解花色形成的机制和相关基因的基础上,可以运用基因工程技术的方法,有目的地改良观赏花卉。自1987年世界首例成功采用转基因技术改造矮牵牛花色以来,花色改造基因工程技术不断展现出它在培育新花色品系中的无穷魅力。迄今,人们采用各种基因工程操作方法已成功地获得了一批新奇花色花卉(表1)。总的来说,基因工程技术改造花色是通过抑制、增强或引入新的控制与花色生成或调控有关的基因而实现的方法。

2.1 反抑制法 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,外源 DNA 转录产物与内源互补的 mRNA 结合,从而抑制目的植株中的这些生化物质的合成,产生花色突变。1988年,荷兰自由大学在世界上首次采用此法获得矮牵牛花色变异新品种, van der Krol 等^[22]首次将反义 *CHS* 基因导入矮牵牛

表1 花色基因工程技术在植物中的应用

技术操作	基因	植物	参考文献
反抑制法	反义 <i>CHS</i> 基因	矮牵牛、非洲菊	22
	<i>CHS</i> 或 <i>DFR</i> 基因	蓝猪耳	24
	<i>PSY</i>	番茄	25, 26
共抑制法	<i>CHS</i>	矮牵牛	27
	<i>CHS</i> 和 <i>DFR</i>	蓝猪耳	29
外源目的基因导入法	玉米 <i>DFR</i> 基因	矮牵牛 <i>RL01</i> 突变体	33
	玉米 <i>DFR</i> 基因	矮牵牛	34
	<i>F3'5'H</i> 和 <i>DFR</i> 基因	康乃馨	35
调节基因导入法	玉米 <i>CI</i> 基因	烟草	39
转座子构建特殊表达载体法	转座子 <i>TEs</i>	矮牵牛	40
	转座子 <i>AC</i>	番茄	41
	转座子 <i>Tag1</i>	烟草	42

中, 抑制花色苷的形成, 以引起花色改变, 再将反义 *CHS* 基因导入非洲菊, 花瓣即着色异常。采用此项技术已在矮牵牛、菊花等几种观赏植物中成功进行了花色修饰。1994年, Courtney-Gutterson 等^[23]通过根癌农杆菌介导转化法, 将一个从菊花中分离到的 *CHS* 基因, 以反义和正义方向分别导入开粉红色花的菊花中, 获得开浅红色和白色花的转基因植株, 未转基因的植株则没有白色花, 从而进一步表明, 转基因植株的开白花性状通过营养繁殖绝大多数能稳定遗传。Aida 等^[24]用相同的方法将 *CHS* 或 *DFR* 基因导入蓝猪耳后, 反义方向导入的转化株花色均一变亮, 而正义方向导入的转化株花色则不均一变亮。*PSY* 反义导入番茄可促进 GGPP 积累, 花和果中类胡萝卜素含量大大下降^[25, 26]。目前, 反义 RNA 技术的机制尚不明了, 可能是作用于基因的转录、翻译水平之果。

2.2 共抑制法 又称有义抑制法, 即正向导入1个(或几个)内源基因的额外拷贝, 该内源基因转录产物 mRNA 的积累反而受到抑制, 进而该内源基因的表达也受抑制。这项技术在矮牵牛、菊花、蓝猪耳等花卉的花色修饰中已取得成功。*CHS* 以多拷贝导入矮牵牛时, 由于共抑制而产生白色花或花瓣图案变化多端^[27]; *DFR* 的 cDNA 转化到矮牵牛后, 花色即不同程度地变淡, *DFR* 的 mRNA 含量下降^[28]; *CHS* 和 *DFR* 共抑制后, 蓝猪耳产生白花和蓝/白花, 而 *F3'5'H* 的共抑制则产生粉红色^[29]。邵莉等^[30]将 *CHS* 基因正向导入开紫色花的矮牵牛中, 得到了开白花和紫白相间花的转基因植株。李艳等^[31]将 *chsA-uidA* 融合基因导入矮牵牛

中, 得到的转基因植株的花色发生明显改变, 共抑制发生率达到 100%。共抑制得到的转化体性状稳定, 不发生回复突变^[32]。

2.3 外源目的基因导入法 将欲修饰的植株及其近缘种植物中原先不具有的1个(或几个)基因导入其中, 从而使该植株增加1个(或几个)新的性状。1987年, Meyer 等^[33]将玉米 *DFR* 基因导入矮牵牛 *RL01* 突变体后, 其二氢黄酮醇还原花葵素, 因此, 转化后的矮牵牛花色由白色变为砖红色。Mo1 等^[34]将玉米 *DFR* 基因导入白色矮牵牛后, 将转基因植株自交, 培育出了鲜橙色矮牵牛。Florigene 公司将来源于矮牵牛的 *F3'5'H* 和 *DFR* 基因导入白色花的康乃馨, 得到2个品系, 分别为 MoondustTM (花为淡紫色) 和 MoonshadowTM (花为深紫色), 先后于 1996 和 1997 年投放到市场^[35]。该公司还将 *F3'5'H* 和 *CYTPb5* 基因同时导入康乃馨, 花色从原来的红色变为深紫色^[36]。最近, 日本 Suntory 公司在矮牵牛上提取蓝色色素基因, 再移植到玫瑰上, 成功地生产出了世界上第1株蓝玫瑰^[37]。

2.4 调节基因导入法 导入调节基因以增强或减弱原有代谢产物表达或导入其它与花色作用有关的基因, 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。Quattrocchio 等^[38]将一系列花色苷合成的调节基因导入矮牵牛后, 获得了粉色的矮牵牛花。Kim^[39]将玉米 *CI* 基因通过农杆菌介导转化烟草, 烟草转化株花瓣变狭长, 颜色显著变浅。

2.5 转座子构建特殊表达载体法 转座子通过插入或割离目的基因而关闭或恢复基因的表达活性,

由于不同细胞中转座子跳出的时间不同, 因而不同细胞中目的基因的表达时空不同, 如果受转座子影响的目的基因是与花色素合成有关的结构基因或调节基因, 则不同细胞中的结构基因表达的时空不同, 因而在不同细胞中生成的花色素苷不同, 导致在同一花瓣上可能显现不同图案的颜色, 形成美丽的嵌合花色。基于这个原理, 人们即可以有目的地构建表达载体, 以达到人为控制嵌合花色的形成。例如, van Houwelingen等^[40]将内源转座子(*TEs*)插入植物表达载体, 转化矮牵牛, 共获得55个新的花色突变体, 这些嵌合花色突变体的产生是由于*TEs*转座子插入基因组, 影响花色素基因表达引起的。可见, 利用转座子的特性, 运用基因工程操作, 可以快速、高效地获得丰富的嵌合花色图案, 增加观赏花卉的新品质。在构建植物表达载体时, 人们可以根据目的要求设计转座子对目标基因(如色素结构基因或调节基因)的影响, 在转基因株系中, 由于转座子可以随机地割离目的基因, 因而也随机性地影响目的基因的表达, 结果在转基因株系中产生新的嵌合色斑。如在构建玉米*Lc*基因的表达载体时, 在*Lc*基因编码区和*CaMV35S*启动子之间插入转座子*AC*, 转化番茄, *AC*跳出之后, *Lc*基因表达导致在番茄的叶子和果实上产生红色斑点^[41]。2001年, Liu等^[42]首次构建了一个转录因子*R*的表达载体, *R*基因调节花色素合成途径中的多个结构基因(如*CHS*、*DFR*、*UFGT*、*F3H*、*CHI*等)的表达, 他们在启动子*CaMV35S*和*R*基因之间插入一个来源于拟南芥自主性的转座子*Tag1*, 结果转基因的烟草花产生多种美丽的嵌合花色。目前, 虽然运用构建含有转座子表达载体转化观赏花卉的例子不多, 但以上成功的实验例子已向我们展示了这一方法将在提高观赏花卉观赏和商业价值、创造新花卉品质中的潜在魅力。

3 结语

第1例用基因工程技术改造花色的实验是在1987年, 距今已将近有20年。在这段时间里, 人们已经运用多种策略在多种植物中成功地进行了花色基因工程技术操作, 但离随心所欲的控制花色形成仍有一段距离。这一方面是花颜色形成过程的调控很复杂, 而且往往受多种因子影响; 另一方面, 转基因在植物细胞内常是多种表现, 如超表达的效果、共抑制产生的效应、目的基因插

入的不稳定性等。改变花色的遗传操作虽然存在不稳定性和难以预见等特性, 但这些特性正符合了花卉产业要求不断产生新、奇、怪的需要。目前, 成功的花色改良基因工程方法中, 反抑制法、共抑制法、外源目的基因导入法和调节基因导入法的应用比较多, 而运用转座子产生嵌合花色的研究则较少。实验表明, 转调节基因的植株, 特别是转座子对调节基因表达活性的影响, 可使花色发生变异的程度很大^[7], 其优势和潜力也都很大。

21世纪花卉业竞争是品种和技术的竞争, 掌握丰富的资源和先进的技术, 势必会在竞争中处于主动地位。我国在观赏植物基因工程中已经开展了一些工作, 如金鱼草、丝石竹、菊花、矮牵牛、蝴蝶兰、二月兰等, 尤其是花色基因工程取得了一定的进展, 分离并克隆了一些与花色素苷代谢有关的基因, 对转座子的认识也在进一步加深^[23]。但如前面所述, 如果转座子影响的目的基因是与花色素合成有关的结构基因或调节基因的话, 则不同细胞中的结构基因的时空表达不同, 由此在不同细胞中生成的花色素苷也不相同, 最终导致在同一花瓣上可能显现出不同的颜色, 形成美丽的嵌合花色。以转座子为基础的功能基因组学方法可用于任何开花植物的研究。虽然转座子在获得插入突变中具有很大的优越性, 但其在花色基因工程中的应用还比较少, 我们应抓住基因工程带来的发展机遇, 充分利用目前已经分离克隆的部分调节基因、功能基因以及我国植物种质资源丰富的优势和某些基础领域研究的优势, 逐步开展我国观赏植物花色及其他各种性状基因工程的研究。

参考文献

- 1 安田 齐著, 张承志, 佟丽译. 花色之谜. 北京: 中国林业出版社, 1989. 1~149
- 2 程金水主编. 园林植物遗传学. 北京: 北京林业出版社, 2000. 23~207
- 3 于晓南, 张启翔. 观赏植物的花色素苷与花色. 林业科学, 2002, 38(3): 147~153
- 4 于迪求, 李宝健. 花色素苷生物合成的遗传和发育调控. 植物生理学通讯, 1997, 33(1): 71~77
- 5 杨朝辉, 雷建军, 宋明等. 花色素苷基因研究进展. 西南农业学报, 2002, 15(2): 111~113
- 6 张石宝, 胡虹, 李树云. 花卉基因工程研究进展 I: 花色. 云南植物研究, 2001, 23(4): 479~487
- 7 李洪清, 李美茹, 潘小平等. 花色改造基因工程. 中国生物工

- 程杂志, 2003, 23(7):42~46
- 8 李美茹, 李洪清, 孙梓健等. 影响蓝色花着色的因素. 植物生理学通讯, 2003, 39(1):51~55
- 9 程金水主编. 园林植物遗传育种学. 北京:中国林业出版社, 2000. 38~40
- 10 McClintock B. Chromosome organization and gene expression. Cold Spring Harbor Symp, 1951, 16:13
- 11 Amutan M, Nyssonson E, Stubbs J et al. Identification and cloning of a mobile transposon from *Aspergillus niger* var. *awamori*. Curr Genet, 1996, 29:468~473
- 12 Gierl A, Saedler H. Plant-transposable elements and gene tagging. Plant Mol Biol, 1992, 19:39~49
- 13 Cowperthwaite M, Park W, Xu Z et al. Use of the transposon *Ac* as a gene-searching engine in the maize genome. Plant Cell, 2002, 14(3):713~726
- 14 朱乾浩. 转座子在植物基因分离中的应用研究进展. 生物工程进展, 1996, 16(2):22~25
- 15 Chopra S, Brendel V, Zhang J et al. Molecular characterization of a mutable pigmentation phenotype and isolation of the first active transposable element from *Sorghum bicolor*. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(26):15330~15335
- 16 Iida S, Morita Y, Choi JD et al. Genetics and epigenetics in flower pigmentation associated with transposable elements in morning glories. Adv Biophys, 2004, 38:141~159
- 17 Inagaki Y, Hisatomi Y, Iida S. Somatic mutations caused by excision of the transposable element, *Tpn1*, from the *DFR* gene for pigmentation in sub-epidermal layer of periclinally chimeric flowers of Japanese morning glory and their germinal transmission to their progeny. Theor Appl Genet, 1996, 92:499~504
- 18 Abe Y, Hoshino A, Iida S. Appearance of flower variegation in the mutable speckled line of the Japanese morning glory is controlled by two genetic elements. Genes Genet Syst, 1997, 72:56~62
- 19 Yamaguchi T, Fukada-Tanaka S, Inagaki Y et al. Genes encoding the vacuolar Na^+/H^+ exchanger and flower coloration. Plant Cell Physiol, 2001, 42(5):451~461
- 20 Fukada-Tanaka S, Inagaki Y, Yamaguchi T et al. Colour-enhancing protein in blue petals. Nature, 2000, 407:581
- 21 Itoh Y, Higeta D, Suzuki A et al. Excision of transposable elements from the chalcone isomerase and dihydroflavonol 4-reductase genes may contribute to the variegation of the yellow-flowered carnation (*Dianthus caryophyllus*). Plant Cell Physiol, 2002, 43(5):578~585
- 22 van der Krol AR, Lenting PE, Veenstra J et al. An anti-sense chalcone synthase gene in transgenic plants inhibits flower pigmentation. Nature, 1988, 333:866~869
- 23 Courtney-Gutterson N, Napoli C, Lemieux C et al. Modification of flower color in florist's *Chrysanthemum*: Production of a white-flowering variety through molecular genetics. Bio/Technol, 1994, 12:268~271
- 24 Aida R, Kishimoto S, Tanaka Y et al. Modification of flower color in torenia (*Torenia foemieri* Lind.) by genetic transformation. Plant Science Limerick, 2000, 153:33~42
- 25 Bird CR, Ray JA, Fletcher JD et al. Using antisense RNA to study gene function: Inhibition of carotenoid biosynthesis in transgenic tomatoes. Biotech, 1991, 9:635~639
- 26 Bramley PM, Teulier C, Blain I et al. Biochemical characterization of transgenic tomato plants in which carotenoid synthesis has been inhibited through the expression antisense RNA to pTOM5. Plant J, 1992, 2:343~349
- 27 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. Plant Cell, 1990, 2(4):279~289
- 28 van der Krol AR, Mur LA, Beld M et al. Flavonoid genes in petunia: Addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression. Plant Cell, 1990, 2(4):291~299
- 29 Suzuki K, Xue H, Tanaka Y et al. Flower color modification of *Torenia hybrida* by cosuppression of anthocyanin biosynthesis genes. Mol Breed, 2000, 6:239~246
- 30 邵莉, 李毅, 杨美珠等. 查尔酮合酶基因对转基因植物花色和育性的影响. 植物学报, 1996, 38(7):517~524
- 31 李艳, 惠有为, 张仲恺等. 转查尔酮合酶基因矮牵牛共抑制的研究. 中国科学(C辑), 2001, 31(5):401~407
- 32 苏焕然, 张丹, 汪胤胤等. 花色基因工程研究进展. 北方园艺, 1996, (4):26~28
- 33 Meyer P, Heidmann I, Forkmann G et al. A new petunia flower colour generated by transformation of a mutant with a maize gene. Nature, 1987, 330(6149):677~678
- 34 Mol JNM, Holton TA, Koes RE. Floriculture: Genetic engineering of commercial traits. Trends Biotechnol, 1995, 13:350~355
- 35 <http://www.florigene.com.au/web/florigenecomau/florigenecomau.nsf/web/index.html>
- 36 Brugliera F, Tull D, Holton TA et al. Introduction of a cytochrome b5 enhances the activity of flavonoid 3',5'-hydroxylase (a cytochrome P450) in transgenic carnation. Sixth International Congress of Plant Molecular Biology. Quebec: University of Laval, 2000, S6~S8
- 37 <http://eladies.sina.com.cn/2004-07-01/99323.html>
- 38 Quattrocchio F, Wing JF, Leppen HTC et al. Regulatory genes controlling anthocyanin pigmentation are functionally conserved among plant species and have distinct sets of target genes. Plant Cell, 1993, 5:1497~1512
- 39 Kim Y. Expression analysis of maize C1 regulatory gene in transgenic tobacco plants (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi). J Kor Soc Hortic Sci, 2001, 42:487~491
- 40 van Houwelingen A, Souer E, Spelt K et al. Analysis of flower pigmentation mutants generated by random transposon mutagenesis in *Petunia hybrida*. Plant J, 1998, 13(1):39~50
- 41 Goldsbrough AP, Tong Y, Yoder JI. Lc as a non-destructive visual reporter and transposition excision maker gene for tomato. Plant J, 1996, 9:927~933
- 42 Liu D, Galli M, Crawford NM. Engineering variegated floral patterns in tobacco plants using the *Arabidopsis* transposon elements *Tag1*. Plant Cell Physiol, 2001, 42(4):419~423