

文章编号: 2096-4749(2018)01-0007-04

DOI:10.13320/j.cnki.hjfor.2018.0002

引文格式: 马喆. 观赏植物花色形成关键酶查尔酮合成酶研究进展[J]. 林业与生态科学, 2018, 33(1): 7-10.

MA Zhe. Research progress of key enzyme chalcone synthase in flower color formation of ornamental plants[J]. Forestry and Ecological Sciences, 2018, 33(1): 7-10.

观赏植物花色形成关键酶查尔酮合成酶研究进展

马喆

(河北省塞罕坝机械林场, 河北 围场 068450)

摘要: 查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)是花色素合成途径中的第 1 个关键酶,它在植物中表达量的改变,能够影响花朵的颜色,在与花色有关的研究中最多,也最深入。文章详细阐述了植物查尔酮合成酶及其基因在花色上的研究发展情况,即查尔酮合成酶在花色表达中的作用、相应的调控因素及利用方式,旨在为以后利用查尔酮合成酶培育新的花色品种提供理论依据和思考方向。

关键词: 观赏植物;花色;查尔酮合成酶;进展

中图分类号: S722, Q559+.9

文献标志码: A

Research progress of key enzyme chalcone synthase in flower color formation of ornamental plants

MA Zhe

(Saihanba Mechanized Forest Farm of Hebei Province, Weichang 068450, China)

Abstract: Chalcone synthase (CHS) is the first key enzyme in anthocyanin biosynthesis pathway. Its expression in plants can affect the color of flowers. It was also studied in the most profound way. In this paper, the progress of chalcone synthase gene in flower color was presented, i. e. the role of chalcone synthase in color expression, the regulating factors, and the use of the corresponding way of using chalcone synthase, to provide theoretical basis and further research for cultivation of new varieties.

Key words: ornamental plant; flower color; chalcone synthase; progress

花色是植物的一个重要观赏性状,其表现的结果取决于所含色素的种类及含量,即由类黄酮(Flavonoids)、类胡萝卜素(Carotenoids)、生物碱(Alkaloid)和叶绿素等 4 类物质决定。其中,类黄酮是最重要的一类色素,通过苯丙烷类合成途径进行生物合成。在合成过程中,查尔酮合成酶(Chalcone synthase, CHS)是最重要的一类酶。它催化苯丙烷代谢反应中黄酮类产物合成的初始反应,即催化 1

个分子的香豆酰 CoA(coumaryl CoA) 与 3 个分子的丙酰 CoA (malonyl CoA) 生成 4,5,7-三羟基黄酮(narigeninchalcone),产生黄酮醇、黄酮、花色苷等类黄酮物质,是花色素苷生物合成途径中的第 1 个关键酶,决定是否向花青素苷形成方向进行及形成产物的多少,为类黄酮物质的合成提供了基本的碳架结构^[1],是近年来研究的热点之一。

收稿日期:2017-10-12;修回日期:2017-11-07

第一作者:马喆(1970-),男,河北围场人,本科,林业高级工程师,研究方向为旅游生态资源开发与利用。

1 观赏植物查尔酮合成酶

自1983年首次从荷兰芹 [*Petroselinum crispum* (Mill.) Hill] 植物中克隆得到查尔酮合成酶基因以来,以荷兰芹的查尔酮合成酶为探针从矮牵牛 (*Petunia hybrida* Vilm.) 中进一步分离出了矮牵牛查尔酮合成酶^[2]。诸多研究表明,查尔酮合成酶家族比较庞大,以双子叶植物数目较多,且不同物种的基因序列长度有所不同,但差距不是很大^[3],同源性较高,其基因开放阅读框(Open reading frame, ORF)的编码序列保守性较强,具有高度的保守性,在不同科属植物中同源性可以超过60%,在氨基酸水平上一致性可达80%^[4]。每个物种可以分离出1个以上的查尔酮合成酶基因^[5]。到目前为止,已有超过650个查尔酮合成酶家族的基因从不同的植物中被分离鉴定^[6]。这些基因所编码蛋白质为稳定的单链疏水性蛋白质,在游离核糖体上合成后不经蛋白转运,直接在细胞质基质的特定部位中行使催化功能。

已经注册的与查尔酮合成酶有关的核酸序列已经有5000多条,但是观赏植物种类较少,主要集中在矮牵牛、莲 (*Nymphaea* L.)、水仙 (*Narcissus tazetta* L. var. *chinensis* Roem.)、菊花 [*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.]、蝴蝶兰 (*Phalaenopsis aphrodite* Rchb. f.) 等种类上。查尔酮合成酶主要在花色形成的反应前期起作用^[7],同时受到多种转录因子的调控作用,是花色形成的关键酶^[8]。其量的改变可影响花色,具有明显的种属特性^[9],是花色中研究最多、最深入的基因之一。

2 查尔酮合成酶在花色表达中的作用

查尔酮合成酶能够调控花青素的空间表达及累积水平,在文心兰 (*Oncidium hybridum*) 中发现,查尔酮合成酶失活导致花器官不能积累花色素苷^[10],所以查尔酮合成酶自身累积水平不同会导致花色呈现的不同。一般认为,它在同种植物红色、蓝色系中含量表达较高^[11],在黄色、白色系中含量较少^[12-15],过量表达时花色变浅^[16-17]。但是,也有相反的情况。例如,在月季 (*Rosa chinensis* Jacq.) 中抑制查尔酮合成酶基因的表达后花冠不着色^[18]。

查尔酮合成酶作用增强后,可使花青素苷合成途径的中间产物量增加。这可能是墨色菊花花色变深的主要原因,但还需进一步研究^[19]。

将查尔酮合成酶表达载体转入植物后,发现其作用部位并不单一^[20-21]。将拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] 的查尔酮合成酶分别以正义、反义两种方式转入烟草 (*Nicotiana tabacum* L.), 烟草花瓣边缘颜色较深而其他部分则很浅,有的颜色粉红而各花瓣结合处为白色。而且转正义基因效果比较明显,其烟草花色普遍更浅,有些几乎为白色^[16]。将彩叶草 [*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd] 查尔酮合成酶基因转入烟草后,转基因植株叶片出现了色斑^[22]。将查尔酮合成酶基因转入非洲菊 (*Gerbera jamesonii* Bolus) 后,花色出现两极现象,即一半橙黄、一半金黄^[23]。所以,越来越多的研究者认为查尔酮合成酶与花斑的形成有密切关系^[24]。

3 查尔酮合成酶调控因素

3.1 转录因子调控

花色苷生物合成途径的基因调控主要发生在转录水平上,与花色苷合成有直接关系的转录因子有bHLH蛋白、MYB蛋白和WD40重复蛋白3种。查尔酮合成酶作为花色苷生物合成途径的关键酶,也受这3种因子的调控。

MYB转录因子是最大的转录家族,可分为3类,即含有1个结构域的R3-MYB,含有2个结构域的R2R3-MYB和含有3个结构域的R1R2R3-MYB,都与花色苷调控相关。MYB转录因子对植物果皮、果肉、叶片和花器官等中花色素苷的形成具有重要的调控作用^[25]。其中,3R-MYB和2R-MYB能直接对查尔酮合成酶基因进行调控。自从Paz-Ares等从单子叶植物玉米中克隆出与色素合成有关的*Zm MYBC1*基因后,又从很多植物中分离到功能各异的MYB基因参与花青素合成调控^[25-27],进一步研究后,发现MYB转录因子能够影响查尔酮合成酶基因的表达^[14,28-29]。但是其机理还有待于进一步研究。

bHLH (basic helix-loop-helix, 碱性螺旋-环-螺旋) 编码的蛋白结构中含有保守的bHLH基序,具

有包含大约 60 个氨基酸的域,其中调节类黄酮和花色苷合成是 bHLH 子最重要功能之一。目前,已在多种植物中克隆表达^[30-32],在一定水平上对花青素苷的合成起正调控作用^[33],是植物中仅次于 MYB 转录因子的第二大转录因子超家族,但是与查尔酮合成酶的关系研究较少。

WD40 蛋白是一类大的蛋白家族,这类蛋白结构高度保守,一般含有 4~16 个串联重复的 WD 基元。目前,对于植物中得到功能验证的 WD40 转录因子较少,只能证明 WD40 蛋白与类黄酮代谢相关^[34]。

3.2 其他因素调控

外界因素对查尔酮合成酶基因表达具有调控作用,现在研究较多的是查尔酮合成酶对逆境的响应,对花色研究较少。但是也有试验表明,光照明显诱导查尔酮合成酶基因的表达,光照时间越长,基因表达水平也越高;培养基中含有蔗糖时,光强烈诱导查尔酮合成酶基因表达^[35],而遮光后抑制查尔酮合成酶基因的表达^[18]。但是,对光照和查尔酮合成酶之间的机理尚未研究明白。

4 基于查尔酮合成酶的花色改良育种技术

由于分子遗传学的快速发展,基因工程为花色改良育种提供了可能性。目前,花色改良工程多采用反义 RNA 技术和共抑制法。

4.1 反义 RNA 技术

利用反义基因转录的反义 RNA 来抑制目标性状中靶基因的表达,进而达到修饰目标性状的目的。这种技术已经被成功地用来抑制查尔酮合成酶基因的活性。在基因反义链转基因的植物中,查尔酮合成酶的活性都有所降低,从而造成无色底物的积累,使花颜色变浅或成白色结合,达到改变花色的目的^[9,16-17,36]。1988 年,荷兰自由大学在世界上首次采用此法获得了矮牵牛花色变异新品种。他们将查尔酮合成酶基因反向导入矮牵牛植株之后,转基因植株表现出不同程度的花色变异。

4.2 共抑制法(有义抑制法)

即通过导入一个或几个内源基因额外的拷贝,

达到抑制该内源基因转录产物(RNA)的积累,进而抑制该内源基因表达的技术。查尔酮合成酶基因的共抑制和反义抑制技术已经在天竺葵(*Pelargonium hortorum* Bailey)、矮牵牛、玫瑰(*Rosa rugosa* Thunb.)和菊花中取得了一定成果^[37-38]。现在已有许多学者成功将查尔酮合成酶转入矮牵牛^[39-40]。邵莉等获得的转基因矮牵牛花色由原来的紫色变成白色或紫白相间^[39],但是冯慧等发现仅有花丝发生变化^[40]。在很多试验中,虽然已经成功转入查尔酮合成酶基因,但是颜色变化未见报道^[21,41]。因此,利用查尔酮合成酶进行花色改良是一项长期艰巨的工作。

5 展望

通过前人的研究可知,查尔酮合成酶在花色形成中具有重要作用,利用它进行花色改良具有可行性。但是,现在只在少数模式植物中研究得较为深入,未能在转录水平上对其进行深入的研究,还不能大规模应用。笔者在文中详细阐述了查尔酮合成酶在花色上的研究进展,旨在为以后查尔酮合成酶与花色改良研究提供理论依据和思考方向,以期增加观赏植物的种类。

参考文献:

- [1] 刘秀明,陆皖行,李佳,等. 红花查尔酮合成酶基因的过表达提高了拟南芥黄酮含量[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(2): 182-190.
- [2] REIF H J, NIESBACH U, DEUMLING B, *et al.* Cloning and analysis of two genes for chalcone synthase from *Petunia hybrida*[J]. Molecular and General Genetics, 1985, 199(2): 208-215.
- [3] 许威,于晓英,陈己任,等. 红花檵木 CHS 基因的克隆与序列分析[J]. 中国农学通报, 2013, 29(1): 24-28.
- [4] 王金玲,瞿礼嘉,陈军,等. 基因外显子 2 的进化规律及其用于植物分子系统学研究的可行性[J]. 科学通报, 2000, 45(9): 942-950.
- [5] DURBIN M L, MCCAIG B, CLEGG M T. Molecular evolution of the chalcone synthase multigene family in the morning glory genome[J]. Plant Molecular Biology, 2000, 42(1): 79-92.
- [6] Yang J, Gu H Y. Duplication and divergent evolution of the CHS and CHS-like genes in the chalcone synthase (CHS) superfamily[J]. Chin Sci Bull, 2006, 51: 505-509.
- [7] 刘建新,丁华桥,葛亚英,等. 擎天凤梨花色素合成关键基因 CHS、F3'H 和 DFR 的克隆及表达分析[J]. 分子植物育种,

- 2017,15(3):805-813.
- [8] 周小理,王青,杨延利,等.植物中查尔酮酶合成黄酮类化合物的研究进展[J].食品工业,2009(6):71-73.
- [9] 徐秀荣,马燕,臧德奎.桂花查耳酮合酶 chs 基因的克隆及序列分析[J].中国农学通报,2016,32(1):118-124.
- [10] Liu X J,Chuang Y N,Chiou C Y, *et al.* Methylation effect on chalcone synthase gene expression determines anthocyanin pigmentation in floral tissues of two *Oncidium* orchid cultivars [J]. *Planta*,2012,236(2):401-409.
- [11] 徐凌云,王俊丽,周宜君,等.喜盐鸢尾花色形成关键基因的克隆及表达分析[J].植物遗传资源学报,2017,18(2):340-348.
- [12] 许传俊,黄珺梅,黄雯,等.不同花色品种蝴蝶兰花色色素苷含量分析及相关基因表达研究[J].华南师范大学学报:自然科学版,2015,47(3):93-99.
- [13] 李军,高广春,李白.色鸳鸯美人蕉中花青素合成关键基因的克隆与表达分析[J].分子植物育种,2015,13(3):634-640.
- [14] 谢吉容,熊运海,程在全,等.月季 MYB 基因 cDNA 全长克隆和表达分析[J].中国农业科学,2008,41(12):4173-4179.
- [15] 刘姗,孙蓉,唐自钟,等.金龙胆草查尔酮合酶基因(CHS)的克隆及其在花期不同组织的表达量分析[J].农业生物技术学报,2014,22(6):703-711.
- [16] 夏玉凤,耿晓娜,王万双,等.转查尔酮合酶基因对烟草花色及花器官的影响[J].生物技术通报,2010(1):93-98.
- [17] 陈洁,安利清,王涛,等.百合查尔酮合酶基因克隆及其转化烟草的花色表达分析[J].西北植物学报,2012,32(8):1511-1517.
- [18] 骆菁菁,李虹,柏斌斌,等.光照对月季‘光谱’花青素合成及其 CHS 和 DFR 基因表达的影响[J].分子植物育种,2013,11(1):126-131.
- [19] 孙卫,李崇晖,王亮生,等.菊花不同花色品种中花青素苷代谢分析[J].植物学报 2010,45(3):327-336.
- [20] 安利清,杨凯,张克,等.百合查尔酮合酶基因的克隆与分析[J].西北植物学报,2011,31(3):0492-0498.
- [21] 安利清,张克,贾海燕,等.查尔酮合酶基因正反义表达载体的构建[C]//中国园艺学会.中国观赏园艺研究进展.北京:中国林业出版社,2011:96-99.
- [22] 祝钦泷.彩叶草(*Solenostemon scutellarioides*)叶色形成相关的花色素苷生物合成途径的分子调控研究[D].重庆:西南大学,2007:20-21.
- [23] 李世成.转 CHS 基因非洲菊的组培快繁[J].福建农业科技,2006(4):38-40.
- [24] WANG Jinling, QU Lijia, CHEN Jun, *et al.* Molecular evolution of the exon 2 of CHS genes and the possibility of its application to plant phylogenetic analysis[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2000, 45(19):1735-1742.
- [25] 赵佳,刘荣,杨帆,等.月季花青素苷相关 R2R3-MYB 蛋白基因的克隆和表达分析[J].中国农业科学,2015,48(7):1392-1404.
- [26] Rabinowicz P D, Braun E L, Wolfe A D, *et al.* Maize R2R3 Myb genes: Sequence analysis reveals amplification in the higher plants[J]. *Genetics*, 1999, 153(3):427-444.
- [27] 母洪娜,孙陶泽,杨秀莲,等.两个桂花品种花色色素相关基因的差异表达[J].南京林业大学学报:自然科学版,2015,39(3):183-186.
- [28] 王小青,韩键,文杨,等.呈色机制不同的桃叶片花色色素苷积累及合成相关基因表达的季节性差异[J].南京农业大学学报,2016,39(6):924-931.
- [29] Griesbach R J, Klein T M. In situ genetic complementation of a flower color mutant in *Doritis pulcherrima* (Orchidaceae) [J]. *Lindleyana*, 1993, (8):223-226.
- [30] 史倩倩,周琳,李奎,等.南野生黄牡丹 P1bHLH3 转录因子基因的克隆与表达[J].林业科学研究,2015,28(4):488-496.
- [31] 单晓彤.香雪兰类黄酮代谢相关 bHLH 转录因子基因的克隆及其功能鉴定[D].长春:东北师范大学,2016:31-32.
- [32] 曾媛.三色堇中花色苷生物合成相关调节基因的克隆与表达验证[D].海口:海南大学,2016:59.
- [33] 赵莉. bHLH 同源基因的表达对菊花花色的影响[D].北京:北京林业大学,2011:34-35.
- [34] 曾黎辉,罗鹏,吴雪琴.类黄酮合成途径结构基因的表达分析与中国水仙不能合成花青原因的初步解析[J].农业科技与信息:现代园林,2015,12(4):295-296.
- [35] 孟祥春,彭建宗,王小菁.光和糖对非洲菊花色素苷积累及 CHS、DFR 基因表达的影响[J].园艺学报,2007,34(1):227-230.
- [36] 陶小荣,钱亚娟,周雪平.等.卫星 DNA 沉默载体的改良及其改变矮牵牛叶色和花色的研究[J].科学通报,2006,51(17):20141-2044.
- [37] ELIDA G, FADI C, HAMDAN F. Cloning of the chaperonin t-complex polypeptide 1 gene from *Schistosoma mansoni* and studies of its expression levels[J]. *Parasitol Res*, 2000, 86:253-258.
- [38] 赵云鹏,陈发棣,郭维明.观赏植物花色基因工程研究进展[J].植物通报,2003,20(1):51-58.
- [39] 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[J].植物学报,1996,38(7):517-524.
- [40] 冯慧,王建红,王茂良,等.矮牵牛遗传转化查尔酮合酶基因的研究[J].天津农学院学报,2007,14(2):9-13.
- [41] 曹冬梅,康黎芳,李永平,等.安祖花 Arizona 品种遗传转化体系的优化及矮牵牛查尔酮合酶基因(Ph CHS)的导入[J].农业生物技术学报,2015,23(3):329-336.

(编辑 郭丽娟)