

引用格式: 李鹏飞, 王爱凡, 黄佳慧, 等. 薰衣草花青素合成相关基因 *LaCHS* 的克隆与功能分析[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(5): 1048–1058. LI Pengfei, WANG Aifan, HUANG Jiahui, et al. Cloning and functional analysis of *LaCHS* gene related to anthocyanin biosynthesis in *Lavandula angustifolia*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 42(5): 1048–1058.

薰衣草花青素合成相关基因 *LaCHS* 的克隆与功能分析

李鹏飞^{1,2}, 王爱凡^{1,2}, 黄佳慧^{1,2}, 陈伊娜^{1,2}, 张明浩^{1,2}, 苏秀娟^{1,2}

(1. 新疆农业大学 农学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业大学 薰衣草研究所/新疆作物生物育种重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要: 【目的】查尔酮合成酶 (chalcone synthase, CHS) 是植物花青素合成的关键酶。探究薰衣草 *Lavandula angustifolia* *LaCHS* 基因与花青素代谢的关系并分析其生物学功能, 为薰衣草花色调控机制研究提供参考。【方法】以薰衣草‘莱文丝深紫’ *L. angustifolia* ‘Levens Deep Purple’ 的幼嫩叶片为材料克隆 *LaCHS* 基因, 利用生物信息学分析 *LaCHS* 蛋白的理化性质和系统进化关系; 利用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 分析 *LaCHS* 基因在薰衣草‘优白’ *L. angustifolia* ‘Superior White’、‘优粉’ ‘Premium Pink’、‘太空蓝’ ‘Space Blue’、‘新农薰1号’ ‘Xinnongxun No.1’ 和‘莱文丝深紫’不同器官中的表达水平, 并分析其花青素相对含量差异; 通过异源过表达本氏烟草 *Nicotiana benthamiana* 和病毒诱导沉默 (VIGS) ‘莱文丝深紫’薰衣草验证 *LaCHS* 基因的功能。【结果】获得长 1 173 bp 的 *LaCHS* 基因 cDNA 序列, 该基因编码 390 个氨基酸, *LaCHS* 蛋白二级结构主要由 α -螺旋和无规则卷曲组成, 属于 PLN03173 超级家族。*LaCHS* 蛋白与圣罗勒 *Ocimum tenuiflorum*、紫苏 *Perilla frutescens* 等物种的 CHS 蛋白的亲缘关系较近。RT-qPCR 分析表明: *LaCHS* 基因具有明显的组织特异性, 主要在花器官中表达。在 5 个薰衣草品种的不同花器官发育时期中, *LaCHS* 基因的表达量在盛花期或衰败期的表达量最高; 花青素相对含量均在衰败期达到最高。在营养器官中, 该基因表达量最高的组织为苞叶或茎, 而花青素相对含量最高的均为苞叶; *LaCHS* 基因的表达变化趋势与花青素积累规律基本一致。在异源过表达烟草株系中, *LaCHS* 基因的表达量上调, 花青素生物合成途径中关键结构基因 (*NbF3'H*、*NbDFR*) 的表达水平同步上调, 且花青素相对含量也同步提高。在基因沉默薰衣草株系中, *LaCHS* 基因的表达量显著下调, 花青素相对含量也同步降低。【结论】*LaCHS* 基因对薰衣草花青素生物合成具有正向调控作用, 影响花青素积累。图 8 表 2 参 35

关键词: 薰衣草; 查尔酮合成酶; 基因克隆; 功能验证; 花青素

中图分类号: S603.2 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)05-1048-11

Cloning and functional analysis of *LaCHS* gene related to anthocyanin biosynthesis in *Lavandula angustifolia*

LI Pengfei^{1,2}, WANG Aifan^{1,2}, HUANG Jiahui^{1,2}, CHEN Yi'na^{1,2}, ZHANG Minghao^{1,2}, SU Xiujuan^{1,2}

(1. College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China; 2. Lavandula Research Institute/Xinjiang Key Laboratory of Crop Improvement & Germplasm Enhancement, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China)

Abstract: [Objective] Chalcone synthase (CHS) is a key enzyme in the biosynthesis of anthocyanins in plants. This study aims to investigate the relationship between the *LaCHS* gene and anthocyanin metabolism in *Lavandula angustifolia* and analyze its biological functions, so as to provide insights for clarifying its mechanism of floral color regulation. [Method] The *LaCHS* gene was cloned using young leaves of *L.*

收稿日期: 2025-05-09; 修回日期: 2025-09-26

基金项目: 新疆维吾尔自治区“天山英才”青年拔尖人才项目 (2023TSYCCX0017); 新疆维吾尔自治区高校基本科研业务费科研项目 (XJEDU2025J043); 新疆农业大学作物学重点学科发展基金 (XNCDKY2024003)

作者简介: 李鹏飞 (ORCID: 0009-0009-1363-9456), 从事薰衣草分子育种研究。E-mail: lifeier13993670141@163.com。通信作者: 苏秀娟, 教授, 博士, 从事薰衣草遗传育种研究。E-mail: smm1980@yeah.net

angustifolia ‘Levens Deep Purple’ as experimental material. Bioinformatics analysis was employed to study the physicochemical properties and phylogenetic relationships of the *LaCHS* protein. The expression levels of the *LaCHS* gene in various organs of *L. angustifolia* cultivars, including ‘Superior White’ ‘Premium Pink’ ‘Space Blue’ ‘Xinnongxun No.1’ and ‘Levens Deep Purple’, were analyzed using real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), and differences in relative anthocyanin content among these cultivars were quantitatively assessed. The function of the *LaCHS* gene in ‘Levens Deep Purple’ was validated through heterologous overexpression in *Nicotiana benthamiana* and virus-induced gene silencing (VIGS). [Result] A 1 173 bp cDNA sequence of the *LaCHS* gene was obtained, encoding 390 amino acids. The secondary structure of the *LaCHS* protein was primarily composed of α -helices and random coils, belonging to the PLN03173 superfamily. Phylogenetic analysis revealed that the *LaCHS* protein had a relatively close genetic relationship with CHS proteins of species such as holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) and perilla (*Perilla frutescens*). RT-qPCR analysis revealed that the *LaCHS* gene exhibited distinct tissue-specific expression, mainly expressed in floral organs. Across the different developmental stages of the flower organs of 5 *L. angustifolia* cultivars, the expression level of the *LaCHS* gene was the highest during the full-bloom or withering stage, while the relative content of anthocyanin reached the peak in the withering stage. Among the vegetative organs, the tissues with the highest gene expression levels were bracts or stems, while the bracts had the highest relative anthocyanin content. The expression trend of *LaCHS* was basically consistent with accumulation dynamics of anthocyanins. The expression level of the *LaCHS* gene in *N. benthamiana* with heterologous overexpression was significantly upregulated, accompanied by synchronous upregulation of key structural genes (*NbF3'H* and *NbDFR*) in the anthocyanin biosynthesis pathway, along with an increase in relative anthocyanin content. The expression level of the *LaCHS* gene in the gene-silenced *L. angustifolia* strain was significantly reduced, and the relative content of anthocyanins also decreased simultaneously. [Conclusion] The *LaCHS* gene has a positive regulatory effect on the biosynthesis of *L. angustifolia* anthocyanins, and affects anthocyanin accumulation. [Ch, 8 fig. 2 tab. 35 ref.]

Key words: *Lavandula angustifolia*; chalcone synthase; gene cloning; functional verification; anthocyanins

薰衣草 *Lavandula angustifolia* 为唇形科 Lamiaceae 多年生小灌木，原产于地中海沿岸地区，兼具观赏价值与经济价值，其精油广泛应用于美容、食品、香料及医药保健领域，是重要的天然香料植物^[1-2]。中国新疆伊犁地区自 20 世纪中期起引种栽培薰衣草，现已成为仅次于法国普罗旺斯的全球第二大薰衣草产区，被农业农村部授予“中国薰衣草之乡”称号^[3]。薰衣草品种繁多，花色以蓝紫色为主，兼具蓝色、白色、粉色等色系^[4]。解析花色形成相关结构基因的功能，对阐明植物花色形成机制、促进物种进化研究及花色遗传改良具有重要意义。

查尔酮合成酶 (chalcone synthase, CHS) 属于植物聚酮合酶超家族成员 (polyketide synthase, PKS)。根据蛋白结构可将 PKS 分为 I、II 和 III 型，PKS-I 和 PKS-II 型仅存在于微生物，而 PKS-III 型 (CHS 超家族) 主要分布于植物中^[5]。CHS 作为类黄酮和花青素生物合成的关键限速酶，可为黄酮类化合物的合成提供碳骨架，其主要功能是在植物次生代谢中催化丙二酰 CoA 和 4-香豆酰 CoA 生成查尔酮。CHS 基因与植物颜色变化之间存在着显著的相关性，其催化产物直接影响植物花色、抗逆性及药用活性成分积累^[6-8]。CHS 在基因及蛋白结构上高度保守，其底物特异性较强，催化机制依赖于高度保守的 Cys164-His303-Asn336 三联体活性位点，催化生成的一系列结构各异、生理活性不同的植物次生代谢产物参与植物生长发育^[9-10]。在掌叶覆盆子 *Rubus chingii* 的 CHS 基因家族成员中，15 个 *RcCHS* 基因具有组织特异性表达，并在果实不同发育时期差异表达，且 *RcCHS8* 和 *RcCHS11* 基因的表达与果实中类黄酮的积累呈正相关^[11]。棘葡萄 *Vitis davidii* 的 *VdCHS2* 基因过表达显著增加了其总花色苷的积累，促进花青素成分的合成和稳定积累，CHS2 基因的过表达影响了 *CHI*、*F3Hb*、*F3'5'H*、*DFR4* 和 *LDOX* 等关键基因的差

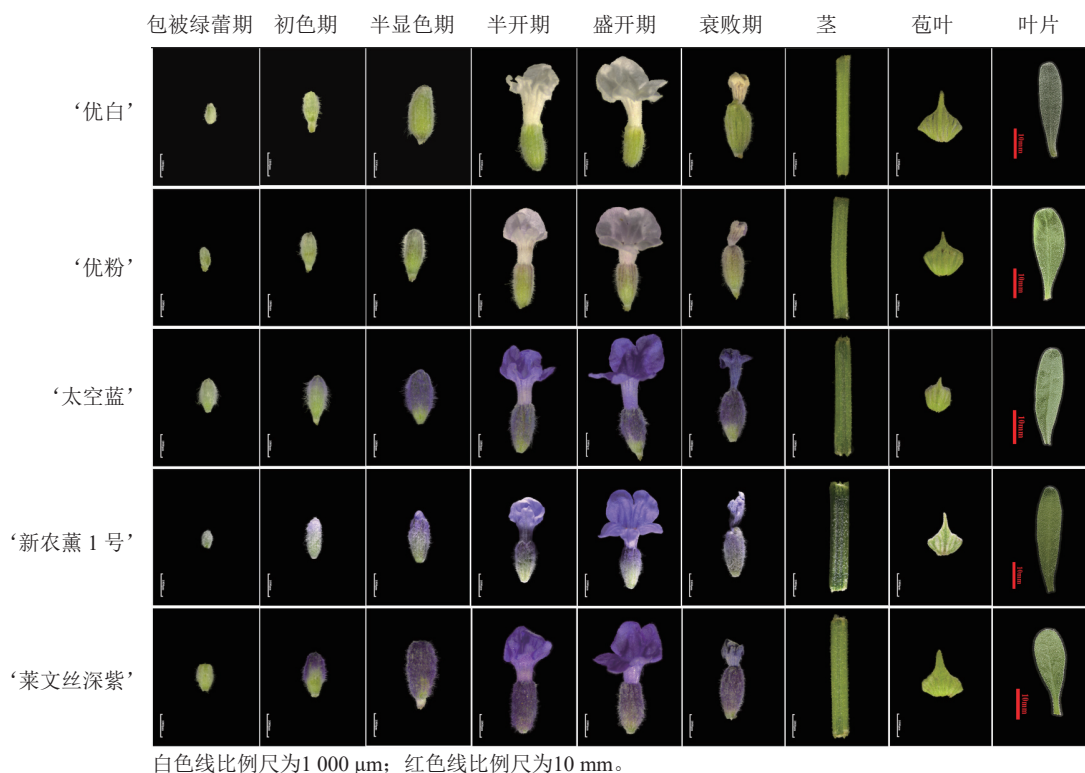
异表达^[12]。高丛蓝莓 *Vaccinium corymbosum* 的 *VcCHSs* 基因过表达可显著增强蓝莓叶片和苹果 *Malus pumila* 果实中花青素的积累, 并上调类黄酮生物合成结构基因的表达^[13]。

目前, 对薰衣草的研究多聚焦于萜类物质合成的代谢途径^[14-17], 对类黄酮合成机制尚待深入研究。本研究首次克隆了位于 Group I 亚家族的薰衣草类黄酮生物合成关键酶基因 *LaCHS*, 并对该基因进行生物信息学、组织特异性表达、异源过表达及病毒诱导基因沉默分析, 旨在揭示其对花色发育与类黄酮合成的调控功能, 为完善薰衣草次生代谢分子机制研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

所有材料均来自新疆农业大学薰衣草研究所种质资源圃, 对‘莱文丝深紫’薰衣草 *L. angustifolia* ‘Levens Deep Purple’ 的幼嫩叶片进行基因克隆, 以‘优白’ ‘Superior White’、‘优粉’ ‘Premium Pink’、‘太空蓝’ ‘Space Blue’、‘新农薰 1 号’ ‘Xinnongxun No.1’ 和‘莱文丝深紫’薰衣草的不同器官为表达模式分析材料。将花器官分为 6 个发育时期: 包被绿蕾期 (S1, 花瓣完全被花萼包裹, 绿色)、初色期 (S2, 花瓣完全被花萼包裹, 花瓣逐渐开始上色)、半显色期 (S3, 花瓣完全被花萼包裹, 花色开始变化为一半绿色一半紫色或白色或粉色)、半开期 (S4, 花瓣为半开, 完全着色)、盛开期 (S5, 花瓣完全开放, 全部着色) 和衰败期 (S6, 花瓣衰败), 以及营养器官为盛开期 (S5) 的茎、苞叶和叶片 (图 1)。基因克隆用新鲜样品, 其余样品于 -80 °C 超低温冰箱保存备用。



白色线比例尺为 1 000 μm ; 红色线比例尺为 10 mm。

图 1 薰衣草花器官不同发育时期及盛花期不同营养器官

Figure 1 Different developmental stages of *L. angustifolia* floral organs and distinct tissues during the peak flowering stage

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取与 cDNA 合成 使用 Total RNA Extractor(Trizol) 提取试剂盒, 提取‘莱文丝深紫’幼嫩叶片、其他参试薰衣草品种花器官 6 个发育时期的花蕾及盛花期 (S5) 的茎、苞叶和叶片的总 RNA。使用分光光度计检测各组织总 RNA 浓度。使用生工生物工程 (上海) 股份有限公司的 MightyScript Plus 第 1 链 cDNA 合成 Master Mix (去基因组 DNA) 试剂盒处理 cDNA。总 RNA 和 cDNA 分别放入 -80 和 -20 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 生物信息学分析 使用美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 网站 Conserved Domains Search 软件对 *LaCHS* 蛋白保守结构域进行预测比对。使用 ExPASy ProtParam Tool 软件预测 *LaCHS* 蛋白的分子量、等

电点等基本理化性质。通过 Plant-mPloc 软件预测 LaCHS 蛋白的亚细胞定位情况。使用 ExPASy Protscale 软件分析 LaCHS 蛋白的亲疏水性。使用 SOPMA 软件预测 LaCHS 蛋白的二级结构，利用 Swiss-Model 软件预测 LaCHS 蛋白的三级结构。从 NCBI 数据库的 Protein Blast 中下载与 LaCHS 蛋白有较高同源性的 CHS 蛋白序列，使用 DNAMAN 软件进行多序列比对；使用 MEGA11 软件将紫苏 *Perilla frutescens*、圣罗勒 *Ocimum tenuiflorum* 等其他科属植物的 CHS 蛋白序列采用邻接法 (neighbor-joining) 构建系统发育树 (bootstrap)，值设置为 1 000，其余参数默认，并利用 evolview 作图。

1.2.3 *LaCHS* 基因克隆载体构建 基于课题组完成的白色花‘优白’与深紫色花‘莱文丝深紫’盛开花蕾比较转录组数据筛选获得 *LaCHS* 基因的参考序列，设计 *LaCHS* 基因扩增特异引物 (表 1)，以‘莱文丝深紫’叶片 cDNA 为材料进行 PCR 扩增，将回收到的片段连接到 pEASY®-T5 载体上，通过热激法将连接产物转化大肠埃希菌 *Escherichia coli* DH5α，经菌落 PCR 初筛，将阳性菌株送生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测序分析。

表 1 本研究所用的引物

Table 1 Primers used in this study		
引物名称	正向(反向)引物序列(5'→3')	引物用途
<i>LaCHS</i> -F	ATGGTGACCGTTGAGGAGATCC	序列扩增
<i>LaCHS</i> -R	TTAATTAATCGCCACGCTGTGCAG	
RT- <i>LaCHS</i> -F	AACACCACAACCCCACTTT	荧光定量
RT- <i>LaCHS</i> -R	TGCGGAAGTAGTAGTCGGGA	
<i>Actin</i> -F	TGTGGATTGCCAAGGCAGAGT	薰衣草内参
<i>Actin</i> -R	AATGAGCAGGCAGCAACAGCA	
pCAMBIA3301- <i>LaCHS</i> -MF	atgaccatgattacgaattcATGGTGACCGTTGAGGAGATC	过表达载体构建
pCAMBIA3301- <i>LaCHS</i> -MR	aggtcgactctagaggtccTTAATTAATCGCCACGCTGTGCA	
pTRV2- <i>LaCHS</i> -MF	TGAGTAAGGTTACCGAATTCATGGTGACCGTTGAGGAGATC	VIGS载体构建
pTRV2- <i>LaCHS</i> -MR	GTGAGCTCGGTACCGGATCCACCACCACGATGTCTTGC	
Nb- <i>Actin</i> -F	AGTCCTCTCCAGCCATCCA	本氏烟草内参
Nb- <i>Actin</i> -R	TAGGAGCCAAAGCCGTGATT	
Nb-RT- <i>LaCHS</i> -F	ATGGTGACCGTTGAGGAGATCC	目的基因 <i>LaCHS</i>
Nb-RT- <i>LaCHS</i> -R	TTGATGCTCGCTGTTGGTGATG	
Nb-RT- <i>NbF3'H</i> -F	TAAGGCTTCATCCATCCACC	下游基因 <i>NbF3'H</i>
Nb-RT- <i>NbF3'H</i> -R	CAAAGTCATTTCCTCGACA	
Nb-RT- <i>NbDFR</i> -F	TTGTTGGTCCATTCTCACG	下游基因 <i>NbDFR</i>
Nb-RT- <i>NbDFR</i> -R	CCACGGGCAAGTCCTTATCG	

1.2.4 *LaCHS* 组织特异性表达 以不同品种薰衣草花器官 6 个发育时期花蕾及盛花期 (S5) 茎、苞叶和叶片的 cDNA 为材料，设计 *LaCHS* 基因的实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 引物 (表 1)。按照 Sangon Biotech 的 SG Excel Fast SYBR Mixture 试剂盒说明书进行 RT-qPCR 扩增，使用 7500 FAST 荧光定量 PCR 仪 (Applied Biosystems) 完成。结果以薰衣草 *Actin* 为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 *LaCHS* 基因相对表达量^[18-19]。

1.2.5 花青素相对含量测定 以不同品种薰衣草花器官 6 个发育时期花蕾及盛花期 (S5) 茎、苞叶和叶片为材料，每个样品设 3 个生物学重复。分别称取 0.3 g 鲜样于适量液氮中研磨，后转移至有 3 mL 花青素提取液 (体积分数为 1% 盐酸-甲醇溶液) 的 10 mL 离心管中，4 ℃ 静置 12~14 h，4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，利用酶标仪分别测定上清液在 530 和 657 nm 处的吸光度 *D*(530)、*D*(657)，根据公式 [*D*(530)−0.25×*D*(657)]/*W_F* 计算样品中花青素的相对含量，其中 *W_F* 为样品鲜质量^[20]。

1.2.6 植物过表达载体构建及烟草遗传转化 提取测序正确的 pEASY®-T5-*LaCHS* 阳性克隆大肠埃希菌的质粒，并进行 *EcoR* I 和 *Bam*H I 双酶切线性化，回收 *LaCHS* 基因片段。以 *LaCHS* 基因回收片段为模

板, pCAMBIA3301-*LaCHS* F/R 为特异性引物 (表 1) 进行 PCR 扩增, 将纯化后的 *LaCHS* 基因重组到 *EcoR* I 和 *Bam*H I 线性化后的 pCAMBIA3301 过表达载体上, 通过热激法转化农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 感受态细胞, 获得 pCAMBIA3301-*LaCHS* 表达载体。利用农杆菌介导的叶盘转化法转化本氏烟草^[21]。

1.2.7 基因沉默载体构建及薰衣草遗传转化 以上述 *LaCHS* 基因回收片段为模板, pTRV2-*LaCHS* F/R 为特异性引物 (表 1) 进行 PCR 扩增, 将纯化后的 *LaCHS* 基因重组到 *EcoR* I 和 *Bam*H I 线性化 pTRV2 载体上, 获得 pTRV2-*LaCHS* 基因沉默载体。利用热激法转化农杆菌感受态细胞 GV3101。以 pEASY®-T5-*LaCHS* 载体为模板构建基因沉默载体, 热激法转化农杆菌, 并使用重悬液调整菌体 $D(600)$ 至 1.3~1.5。将携带 pTRV1 的菌悬液分别与 pTRV2 重组质粒菌悬液按体积比为 1:1 混合, 混合后置于室温避光条件下静置 4~5 h 以备后续侵染试验使用。选在人工培养室培养 5~7 周生长健壮且无杂乱分支的‘莱文丝深紫’薰衣草植株幼苗中部 4~6 片较大的叶片进行注射。注射后避光培养 24 h, 期间断水 3 d。以注射 15 d 后新长出的嫩芽提取的 RNA 反转录的 cDNA 为模板, 选择 *Actin* 为内参基因进行 RT-qPCR 分析^[4, 22]。

1.2.8 数据分析 组织特异性表达分析以各品种花器官不同发育时期和盛花期不同营养器官中的最低表达量为对照, 异源过表达及基因沉默试验以野生型 (WT) 为对照, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *LaCHS* 基因的相对表达量^[4, 18-22]。花青素相对含量计算方法见 1.2.5。数据使用 Excel 2021 处理, 使用 SPSS 26.0 进行单因素显著性分析, 使用 GraphPad Prism 10.1.2 分析作图。

2 结果与分析

2.1 *LaCHS* 基因的克隆

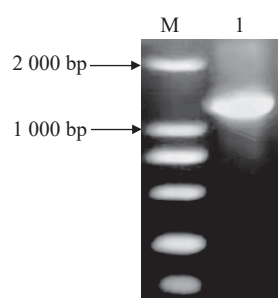
以‘莱文丝深紫’叶片 cDNA 为模板, 通过特异引物 *LaCHS*-R/F 进行 PCR 扩增, 获得 1 条大于 1 000 bp 大小的条带, 与目标条带大小相似 (图 2)。将回收纯化 PCR 产物连接到 pEASY®-T5 载体上, 对阳性单克隆菌株进行测序分析。目的片段长度为 1 173 bp, 编码 390 个氨基酸, 命名为 *LaCHS* 基因。

2.2 *LaCHS* 蛋白结构域、理化性质及蛋白二级和三级结构预测分析

LaCHS 蛋白拥有 CHS_like 区域以及 PLN03173 和 fabH 等 3 个保守结构域, 属于查尔酮合酶超级家族 (图 3A)。*LaCHS* 蛋白分子式为 $C_{1886}H_{3013}N_{511}O_{563}S_{19}$, 相对分子量为 42.46 kDa, 理论等电点为 6.09, 脂肪系数为 90.51, 不稳定系数为 39.27, 属于稳定蛋白。*LaCHS* 蛋白平均亲水指数为 -0.058, 最大疏水分值 (-2.489) 位于肽链第 118 位氨基酸, 最大亲水分值 (2.422) 位于肽链第 341 位氨基酸, 属于亲水性蛋白 (图 3B)。对 *LaCHS* 蛋白的二级结构进行预测: 发现该蛋白存在 α -螺旋、 β -折叠、延伸链和无规则卷曲 4 种结构, 其中以 α -螺旋和无规则卷曲占比最大, 分别占 40.51% 和 44.10%, 而延伸链占 15.38% (图 3C)。以水稻 *Oryza sativa* 蛋白 (登录号: 4yjj.1.A) 为模板, 对 *LaCHS* 蛋白的三级结构进行建模, 建模的三级结构覆盖率为 92.00%, 序列一致性为 83.80%。该结果与二级结构预测结果一致 (图 3D)。

2.3 *LaCHS* 蛋白序列同源性比较和系统进化分析

氨基酸多序列比对分析发现: 薰衣草 *LaCHS* 蛋白具有典型的关键催化三联体 (Cys-His-Asn) 以及高度保守的 CHS 特征序列 (WGVLFPGPGLT)。*LaCHS* 蛋白与圣罗勒、紫苏和藿香 *Agastache rugosa*、五彩苏 *Coleus scutellarioides* 的 CHS 蛋白相似性超过 93% (图 4)。系统进化树分析结果表明: *LaCHS* 蛋白与圣罗勒 (登录号: QQG64129.1) 亲缘关系较近, 都属于 Group I 型蛋白 (图 5), 该类型 CHS 蛋白在植物次生代谢催化丙二酰 CoA 和 4-香豆酰 CoA 生成查尔酮中起重要作用, 同科属的 CHS 蛋白处于同一分支,



M. Marker 2000; 1. *LaCHS* 基因。

图 2 薰衣草 *LaCHS* 基因克隆

Figure 2 Cloning of the *LaCHS* gene in *L. angustifolia*

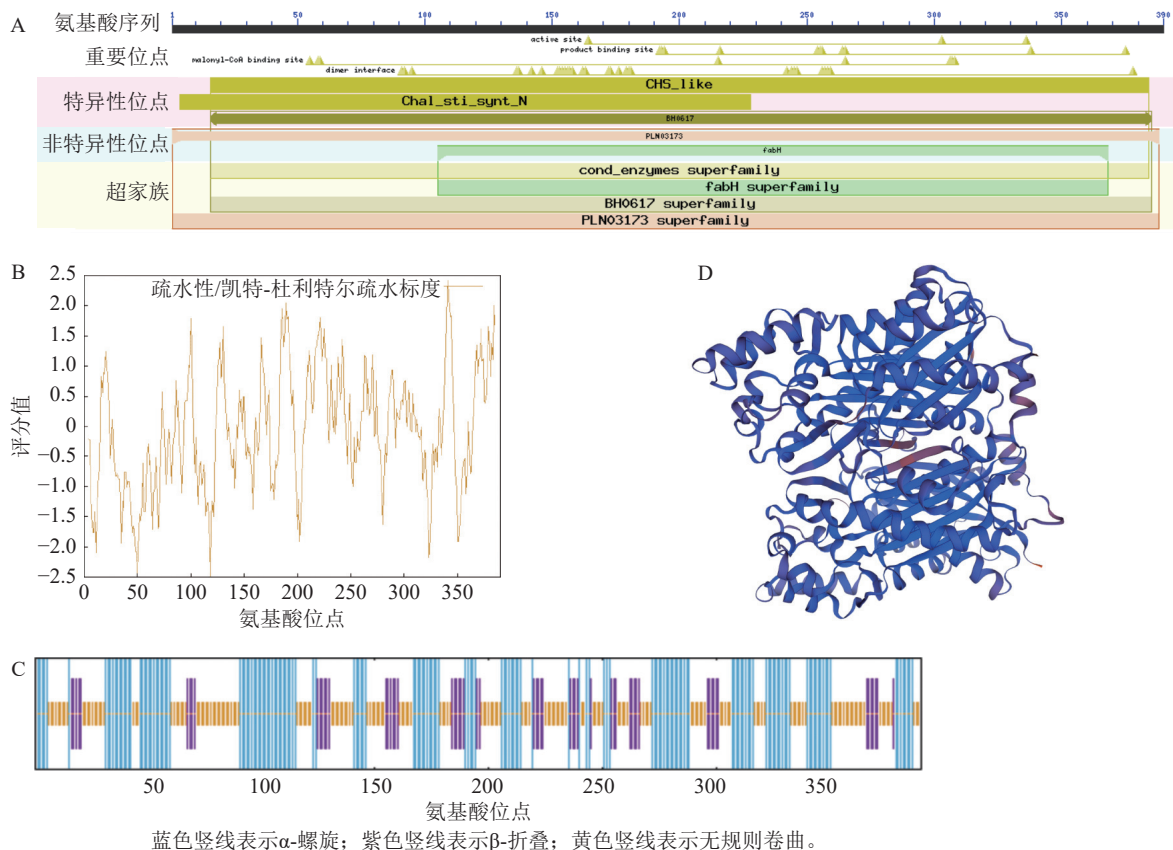
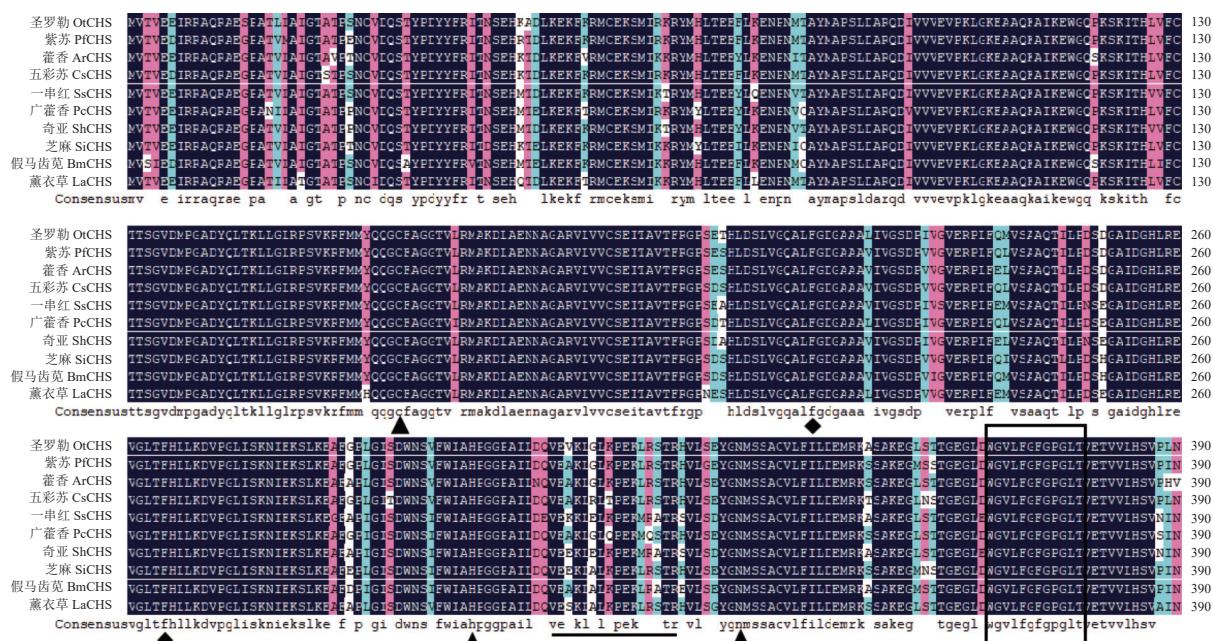
图 3 薰衣草 *LaCHS* 蛋白结构域 (A)、亲/疏水性 (B)、二级结构 (C) 及三级结构 (D) 预测

Figure 3 Prediction of structural domains (A), hydrophilic/hydrophobic properties (B), secondary structure (C), and tertiary structure (D) of *L. angustifolia* *LaCHS* protein



▲表示 Cys-His-Asn 三联活性中心; ◆表示苯丙氨酸残基 Phe215 和 Phe265。方框内为 CHS 的高度保守特征序列 (WGVLFGPGLT), 下划线为丙二酰 CoA 结合位点。圣罗勒 *Ocimum tenuiflorum*; 紫苏 *Perilla frutescens*; 藿香 *Agastache rugosa*; 五彩苏 *Coleus scutellarioides*; 一串红 *Salvia splendens*; 广藿香 *Pogostemon cablin*; 奇亚 *Salvia hispanica*; 芝麻 *Sesamum indicum*; 假马齿苋 *Bacopa monnieri*; 薰衣草 *Lavandula angustifolia*。

图 4 薰衣草 *LaCHS* 蛋白与其他物种 CHS 氨基酸序列比对分析

Figure 4 Comparative amino acid sequence alignment between *L. angustifolia* CHS (*LaCHS*) and chalcone synthases from other species

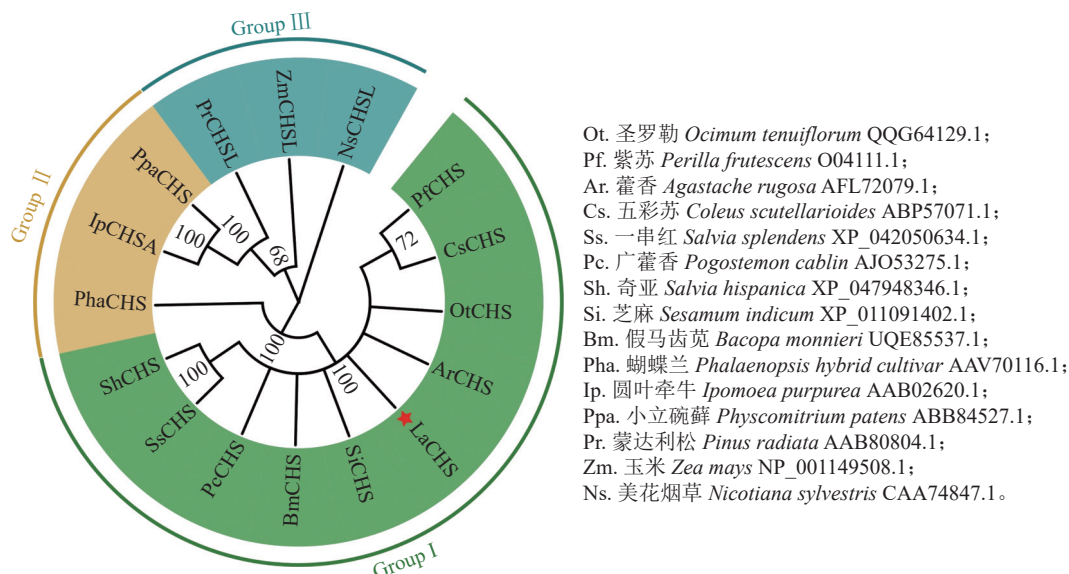


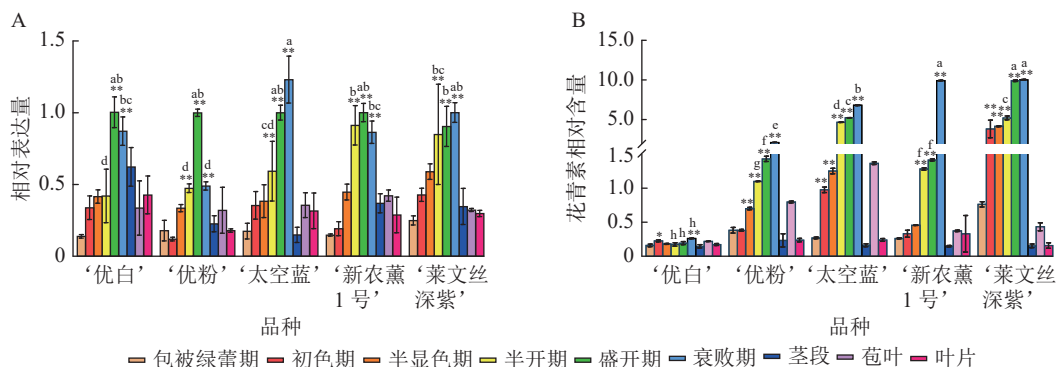
图 5 薰衣草 LaCHS 蛋白的系统进化树分析

Figure 5 Phylogenetic tree analysis of chalcone synthase (LaCHS) protein in *L. angustifolia*

说明薰衣草 LaCHS 蛋白在生物进化过程中较为保守。

2.4 LaCHS 基因的表达模式分析

利用 RT-qPCR 分析薰衣草 *LaCHS* 基因在不同品种、花器官不同发育时期及盛花期 (S5) 不同营养器官中的表达水平。结果表明：*LaCHS* 基因在薰衣草不同品种、不同营养器官间均有表达，且品种内盛花期 (S5) 的表达水平显著高于包被绿蕾期 (S1)；品种间，在营养器官中，茎、苞叶和叶片的表达水平与花器官存在显著差异 ($P < 0.05$)，具有明显的组织特异性。*LaCHS* 基因的相对表达量与花青素相对含量基本随花发育时期而逐渐增加，其中 *LaCHS* 基因的表达水平在‘优白’‘优粉’和‘新农薰 1 号’盛花期 (S5) 达到最高 (图 6A)，在‘太空蓝’和‘莱文丝深紫’衰败期 (S6) 达到最高，而 5 个品种的花青素相对含量均于衰败期 (S6) 达到峰值 (图 6B)；在盛花期 (S5) 不同营养器官中，‘优粉’‘新农薰 1 号’‘太空蓝’在苞叶中的 *LaCHS* 基因相对表达量最高，而‘优白’‘莱文丝深紫’在茎中的表达量最高，而 5 个品种的花青素相对含量在苞叶中均为最高，其次是叶和茎 (图 6B)。除‘优白’外，其余品种中 *LaCHS* 基因的表达变化水平与花青素积累规律呈极显著正相关 ($P < 0.01$ ，表 2)。



*, ** 分别表示品种内差异显著 ($P < 0.05$)、差异极显著 ($P < 0.001$)；不同小写字母表示在品种间 S4~S6 期差异显著 ($P < 0.05$)。

图 6 薰衣草的 *LaCHS* 基因的时空表达分析和花青素相对含量分析Figure 6 Spatiotemporal expression of the *LaCHS* gene and relative anthocyanin content analysis in *L. angustifolia*

2.5 LaCHS 基因的功能验证

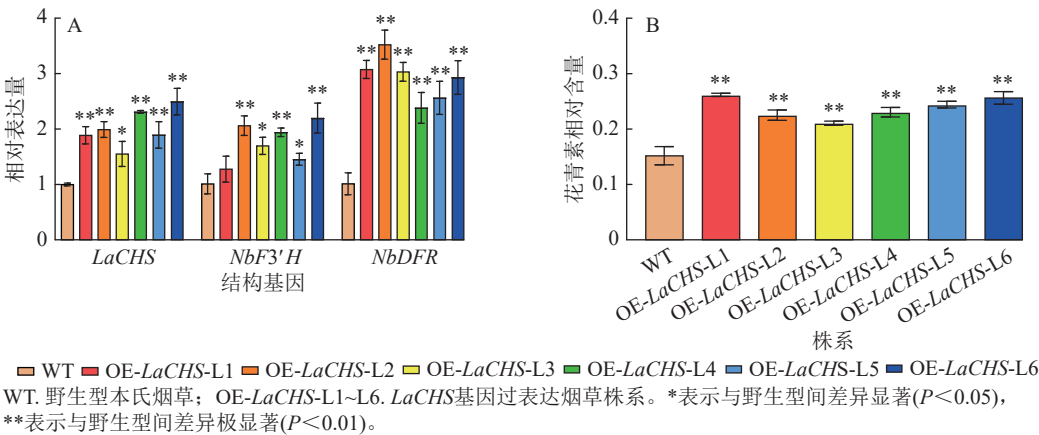
2.5.1 *LaCHS* 基因过表达烟草的表达分析 利用农杆菌介导的叶盘法转化本氏烟草共获得 22 株抗性植株，提取转基因烟草植株叶片 DNA 并进行目的基因 PCR 检测，获得 6 株阳性植株 (L1~L6)，阳性率为 27%。以烟草叶片 cDNA 为模板，检测烟草内参基因、*LaCHS* 基因及烟草中与花青素生物合成关键结构基因 *NbF3'H* 和 *NbDFR* 的表达水平。相较于野生型，转基因各株系中 *LaCHS* 基因的表达水平上调了

表 2 薰衣草 *LaCHS* 基因表达水平与花青素积累规律的相关性分析

项目	‘优白’		‘优粉’		‘太空蓝’		‘新农薰1号’		‘莱文丝深紫’	
	<i>LaCHS</i>	花青素	<i>LaCHS</i>	花青素	<i>LaCHS</i>	花青素	<i>LaCHS</i>	花青素	<i>LaCHS</i>	花青素
<i>LaCHS</i>	1	0.201	1	0.690**	1	0.924**	1	0.511**	1	0.873**
花青素	0.201	1	0.690**	1	0.924**	1	0.511**	1	0.873**	1

说明：** 表示极显著相关($P<0.01$)。

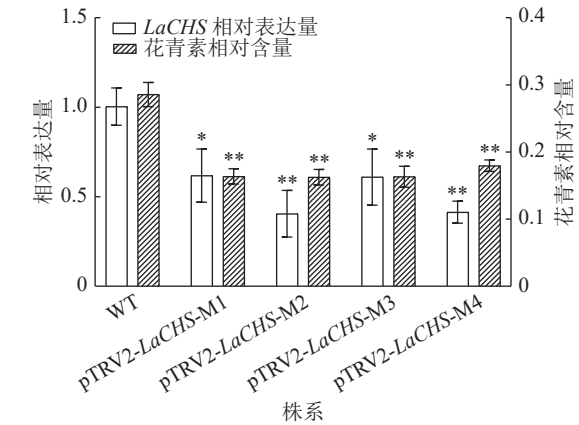
0.55~1.49 倍，结构基因 *NbF3'H* 和 *NbDFR* 的表达水平分别上调了 0.27~1.19 和 1.38~2.52 倍 (图 7A)。此外，转基因株系 L1~L6 叶片中花青素相对含量分别极显著提高了 0.72、0.48、0.39、0.52、0.61 和 0.69 倍 (图 7B， $P<0.01$)。说明 *LaCHS* 能促进花青素合成关键结构基因 *NbF3'H* 与 *NbDFR* 的表达，可能与花青素合成通路中的其他基因共同调控花青素的合成。



2.5.2 病毒诱导 (VIGS) 薰衣草 *LaCHS* 基因的表达分析 利用 pTRV2-*LaCHS* F/R 特异性引物，通过 RT-qPCR 检测经基因沉默处理后薰衣草新长出的嫩芽中 *LaCHS* 基因的表达水平。相较于野生型，薰衣草 *LaCHS* 基因沉默株系 (M1~M4) 中，*LaCHS* 基因的表达水平显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 下降，分别下降了 0.38、0.60、0.39 和 0.59 倍 (图 8)，说明所有基因沉默株系中目的基因均被有效沉默。为进一步验证 *LaCHS* 基因对花青素合成的调控作用，分别测定薰衣草 *LaCHS* 基因沉默各株系中花青素的相对含量。结果显示：相较于野生型，基因沉默各株系中花青素相对含量均极显著下降 ($P<0.01$)，分别降低了 0.43、0.43、0.43 和 0.37 倍 (图 8)。结果表明：沉默 *LaCHS* 基因可降低薰衣草花青素相对含量，证明 *LaCHS* 基因可调节花青素的合成。

3 讨论

花青素与植物花色形成密切相关。类黄酮合成途径中的关键酶基因 *CHS* 的表达水平变化可影响植物花色呈现^[8-10, 23]。研究表明：广藿香 *Pogostemon cablin* 的 PcCHS 蛋白可催化丙二酰 CoA 和 4-香豆酰 CoA 生成查尔酮^[24]。位于 Group I 亚家族的薰衣草 *LaCHS* 蛋白拥有 CHS_like 区域以及 PLN03173 和



WT. 野生型; pTRV2-*LaCHS*-M1~M4. VIGS 基因沉默薰衣草株系。
*表示差异显著($P<0.05$), **表示差异极显著($P<0.01$)。

图 8 病毒诱导 (VIGS) 薰衣草 *LaCHS* 基因的相对表达量及花青素相对含量分析
Figure 8 Relative expression level of the *LaCHS* gene and relative anthocyanin content in virus-induced gene silencing (VIGS)-treated lavender

fabH等3个保守结构域,属于查尔酮合酶超级家族,且具有WGVLFGPGLT和关键催化三联体(Cys-His-Asn)高度保守的CHS特征序列。LaCHS蛋白与同科圣罗勒、广藿香、紫苏等9种物种的CHS蛋白高度同源且属于Group I亚族,因此,推测LaCHS蛋白也可通过催化丙二酰CoA和4-香豆酰CoA而生成交尔酮。

花青素生物合成的调控机制是一个多因子协同作用的复杂网络,主要涉及转录因子(MYB、bHLH等)调控、代谢途径结构基因互作、植物激素(赤霉素、乙烯等)信号转导及环境(光照、温度及机械损伤等)胁迫响应等4个层面^[25]。据报道,紫色马铃薯 *Solanum tuberosum* 块茎中 *StCHS4* 基因与 *StCHS5* 基因表达水平显著高于白色和黄色马铃薯,且与马铃薯块茎中花青素的积累呈正相关^[26];在丁香 *Syringa oblata* 中,花和其他组织中 *SoCHS1* 基因的表达水平与花发育过程中花青素相对含量显著正相关^[27];在藤茶 *Ampelopsis grossedentata* 中, *AgCHS1* 基因的表达水平呈先升后降的趋势,总黄酮含量变化趋势与 *AgCHS1* 基因的表达水平变化趋势基本一致^[28];在杜鹃花 *Rhododendron simsii* 中,花青素在开花期总体呈增加趋势且在盛花期达到高峰,与 *RhCHS* 基因表达水平的变化规律一致^[29]。在本研究中,随着花的发育,‘优粉’‘太空蓝’‘新农薰1号’及‘莱文丝深紫’等品种的 *LaCHS* 基因表达量与花青素相对含量呈正相关,表现为先增加后降低的趋势,在盛开期或衰败期达到最高。这与上述研究的结果相同。但本研究发现:在白花‘优白’中, *LaCHS* 基因表达量随着花的发展进程逐渐上调,但花青素相对含量始终保持在同一水平。这可能是 *LaCHS* 基因与其他调节因子及结构基因互作共同调控,最终生成白色的类黄酮物质并积累,进而使花色呈现为白色^[30]。

过表达黄牡丹 *Paeonia delavayi* var. *lutea* *PdCHS* 转基因烟草品系中大部分花青素成分呈现出不同程度上调^[31]。紫苏中, *CHS* 基因的高表达则促进其叶片中黄酮类化合物的积累^[32]。对石竹 *Dianthus chinensis* *DchCHSs* 基因、茄子 *Solanum melongena* *SmCHS* 基因进行沉默后,其沉默株系中花青素相对含量、*DchCHSs* 基因表达量及 *SmCHS* 基因表达量均显著降低^[33-34]。同理,对大白菜 *Brassica rapa* var. *glabra* *BrCHS4* 基因进行沉默后,抑制了其 *BrCHS4* 基因的表达,同时降低了叶片中类黄酮和花青素的相对含量^[35]。在本研究中,烟草过表达 *LaCHS* 基因株系中, *LaCHS* 基因和与烟草花青素合成相关的 *NbF3'H* 与 *NbDFR* 结构基因的表达水平均显著上调,花青素的相对含量也同步增加。此外,薰衣草基因沉默株系中, *LaCHS* 基因的表达水平与花青素相对含量均显著降低。推测薰衣草 *LaCHS* 基因作为其花青素合成的正向调节基因,与其他结构基因共同调控花青素的合成。这一结果可为 *LaCHS* 基因调控薰衣草花青素物质代谢合成分子机制的阐释提供理论参考。

4 结论

本研究在薰衣草中克隆了 *LaCHS* 基因。该基因具有典型的关键催化三联体(Cys-His-Asn)和高度保守的CHS特征序列(WGVLFGPGLT),与圣罗勒亲缘关系较近。*LaCHS* 基因具有明显的组织特异性,并随着花的发育呈逐渐升高的趋势,且与花青素的积累规律基本一致。*LaCHS* 基因能促进结构基因 *NbF3'H* 和 *NbDFR* 的表达,进而促进花青素的积累。本研究探究了薰衣草 *LaCHS* 基因的功能,为进一步解析该基因在薰衣草花青素生物合成中的分子机制提供参考,并为薰衣草新品种选育提供理论基础。

5 参考文献

- [1] 张群,扎灵丽.薰衣草的研究和应用[J].时珍国医国药,2008,19(6):1312-1314.
ZHANG Qun, ZHA Lingli. Research and application of lavender [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2008, 19(6): 1312-1314.
- [2] 王玉芹,孙亚军,施献儿.薰衣草精油的化学成分与药理活性[J].国外医药(植物药分册),2004,19(1):5-8.
WANG Yuqin, SUN Yajun, SHI Xianer. Chemical constituents and pharmacological activities of lavender essential oil [J]. *Drugs & Clinic*, 2004, 19(1): 5-8.
- [3] 蔡永智,郝晓云,王力,等.中国薰衣草产业发展现状及对策[J].北方园艺,2020(12):142-147.
CAI Yongzhi, HAO Xiaoyun, WANG Li, et al. Development status and countermeasures of Chinese lavender industry [J]. *Northern Horticulture*, 2020(12): 142-147.

- [4] 买尔孜亚古丽·阿不来克木. 薰衣草萜类合成相关转录因子 bHLH 的克隆及功能分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2023.
Maierziyaguli Abulaikemu. *Cloning and Functional Analysis of Lavandula Terpene Synthesis Related Transcription Factor bHLH*[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2023.
- [5] 成永娟, 张明月, 曹雪璟, 等. 葡萄 *CHS* 基因家族鉴定与表达分析[J]. 果树学报, 2023, **40**(5): 861–874.
CHENG Yongjuan, ZHANG Mingyue, CAO Xuejing, *et al.* Identification and expression analysis of *CHS* gene family in grape [J]. *Journal of Fruit Science*, 2023, **40**(5): 861–874.
- [6] 贾赵东, 马佩勇, 边小峰, 等. 植物花青素合成代谢途径及其分子调控[J]. 西北植物学报, 2014, **34**(7): 1496–1506.
JIA Zhaodong, MA Peiyong, BIAN Xiaofeng, *et al.* Biosynthesis metabolic pathway and molecular regulation of plants anthocyanin [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, **34**(7): 1496–1506.
- [7] DONG Naiqian, LIN Hongxuan. Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant-environment interactions [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, **63**(1): 180–209.
- [8] 刘淑华, 臧丹丹, 孙燕, 等. 花青素生物合成途径及关键酶研究进展[J]. 土壤与作物, 2022, **11**(3): 336–346.
LIU Shuhua, ZANG Dandan, SUN Yan, *et al.* Research advances on biosynthesis pathway of anthocyanins and relevant key enzymes [J]. *Soils and Crops*, 2022, **11**(3): 336–346.
- [9] GUO Dongmei, WANG Hanyan, ZHANG Shumin, *et al.* The type III polyketide synthase supergene family in plants: complex evolutionary history and functional divergence [J]. *The Plant Journal*, 2022, **112**(2): 414–428.
- [10] DENG Yuxing, LI Caili, LI Heqin, *et al.* Identification and characterization of flavonoid biosynthetic enzyme genes in *Salvia miltiorrhiza* (Lamiaceae)[J/OL]. *Molecules*, 2018, **23**(6): 1467[2025-04-09]. DOI: [10.3390/molecules23061467](https://doi.org/10.3390/molecules23061467).
- [11] 应宇鑫, 许张婷, 陈俊宇, 等. 掌叶覆盆子查耳酮合成酶基因家族鉴定及表达分析[J]. 中草药, 2024, **55**(22): 7799–7811.
YING Yuxin, XU Zhangting, CHEN Junyu, *et al.* Identification and expression profiles of *Chalcone* synthase gene family in *Rubus chingii* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2024, **55**(22): 7799–7811.
- [12] HE Liyuan, LAI Gongti, LIN Junxuan, *et al.* *VdCHS2* overexpression enhances anthocyanin biosynthesis, modulates the composition ratio, and increases antioxidant activity in *Vitis davidii* cells[J/OL]. *Antioxidants*, 2024, **13**(12): 1472[2025-04-09]. DOI: [10.3390/antiox13121472](https://doi.org/10.3390/antiox13121472).
- [13] ZHANG Zening, QU Pengyan, HAO Siyi, *et al.* Characterization and functional analysis of *Chalcone synthase* genes in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*)[J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**(18): 13882[2025-04-09]. DOI: [10.3390/ijms241813882](https://doi.org/10.3390/ijms241813882).
- [14] 岳俊齐, 约日耶提·萨力, 克拉热木·克里木江, 等. 薰衣草 *LaGGPPS5* 基因在大肠杆菌中催化萜类物质合成[J]. 中国农业科技导报, 2023, **25**(12): 85–92.
YUE Junqi, Yueriyeti Sali, Kelaremu Kelimujiang, *et al.* Lavender *LaGGPPS5* gene catalyzing terpenoids synthesis in *Escherichia coli* [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2023, **25**(12): 85–92.
- [15] JADCZAK P, KULPA D, BIHUN M, *et al.* Positive effect of AgNPs and AuNPs in *in vitro* cultures of *Lavandula angustifolia* Mill[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2019, **139**(1): 191–197.
- [16] 王倩, 刘菲, 杨素珍, 等. 薰衣草精油的精制分离与抗炎活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, **35**(10): 108–117.
WANG Qian, LIU Fei, YANG Suzhen, *et al.* Refinement and separation of lavender essential oil and its anti-inflammatory activity [J]. *China Food Additives*, 2024, **35**(10): 108–117.
- [17] RUSANOV K, VASSILEVA P, RUSANOVA M, *et al.* Identification of QTL controlling the ratio of linalool to linalyl acetate in the flowers of *Lavandula angustifolia* Mill var. *Hemus*[J/OL]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2023, **37**(1): 2288929[2025-04-09]. DOI: [10.1080/13102818.2023.2288929](https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2288929).
- [18] 蔺海娇, 梁雨晨, 李玲, 等. 薰衣草 *CBF* 途径相关耐寒基因挖掘与调控网络分析[J]. 园艺学报, 2023, **50**(1): 131–144.
LIN Haijiao, LIANG Yuchen, LI Ling, *et al.* Exploration and regulation network analysis of *CBF* pathway related cold tolerance genes in *Lavandula angustifolia* [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2023, **50**(1): 131–144.
- [19] 龚林涛, 苏秀娟, 廖燕, 等. 薰衣草芳樟醇合酶基因的克隆、表达及酶活性检测[J]. 作物杂志, 2021(6): 78–87.
GONG Lintao, SU Xiujuan, LIAO Yan, *et al.* Cloning, expression and enzyme activity detection of linalool synthase gene in lavender [J]. *Crops*, 2021(6): 78–87.
- [20] HUANG Wenjun, KHALDUN A M, CHEN Jianjun, *et al.* A R2R3-MYB transcription factor regulates the flavonol

- biosynthetic pathway in a traditional Chinese medicinal plant, *Epimedium sagittatum* [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1089 [2025-04-09]. DOI: [10.3389/fpls.2016.01089](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01089).
- [21] 王李先秋. 烟草 *NtMBD1* 基因定位克隆及其调控分枝性状的应用研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2023.
- WANG Lixianqiu. *Map-based Cloning of NtMBD1 and Its Application in Regulating Branching Trait* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2023.
- [22] 薛志航, 买尔孜亚古丽·阿不来克木, 王爱凡, 等. 薰衣草萜类合成相关基因 *LiMYC1* 的表达分析及功能验证 [J]. 农业生物技术学报, 2025, 33(3): 570–580.
- XUE Zhihang, Maierziyaguli Abulaikemu, WANG Aifan, *et al.* Expression analysis and functional verification of the *LiMYC1* related to lavender (*Lavandula × intermedia*) terpenoid synthesis [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2025, 33(3): 570–580.
- [23] PANDITH S A, RAMAZAN S, KHAN M I, *et al.* *Chalcone synthases* (CHSs): the symbolic type III polyketide synthases [J/OL]. *Planta*, 2019, 251(1): 15 [2025-04-09]. DOI: [10.1007/s00425-019-03307-y](https://doi.org/10.1007/s00425-019-03307-y).
- [24] ZENG S, OUYANG P, MO X, *et al.* Characterization of genes coding phenylalanine ammonia lyase and *Chalcone* synthase in four *Pogostemon cablin* cultivars [J]. *Biologia Plantarum*, 2015, 59(2): 298–304.
- [25] 胡彦如, 黄兴连, 叶静文. 植物花青素合成及其调控因素研究进展 [J]. 生命科学研究, 2024, 28(6): 493–502.
- HU Yanru, HUANG Xinglian, YE Jingwen. Research progress of anthocyanin synthesis and regulatory factors in plants [J]. *Life Science Research*, 2024, 28(6): 493–502.
- [26] 王文静. 马铃薯 *CHS* 基因家族鉴定及功能解析 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2023.
- WANG Wenjing. *Identification and Functional Analysis of CHS Gene Family in Potato* [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2023.
- [27] WANG Yu, DOU Ying, WANG Rui, *et al.* Molecular characterization and functional analysis of *Chalcone* synthase from *Syringa oblata* Lindl. in the flavonoid biosynthetic pathway [J]. *Gene*, 2017, 635: 16–23.
- [28] 许明, 林世强, 倪冬昕, 等. 藤茶查尔酮合成酶基因 *AgCHS1* 的克隆及功能鉴定 [J]. 中国农业科学, 2020, 53(24): 5091–5103.
- XU Ming, LIN Shiqiang, NI Dongxin, *et al.* Cloning and function characterization of *Chalcone* synthase gene *AgCHS1* in *Ampelopsis grossedentata* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(24): 5091–5103.
- [29] JIA Yonghong, HE Fan, SHEN Zili, *et al.* Molecular characterization of a *Chalcone* synthase gene *RhCHS* from *Rhododendron × hybridum* Hort. [J/OL]. *Gene*, 2023, 857: 147176 [2025-04-09]. DOI: [10.1016/j.gene.2023.147176](https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147176).
- [30] QIANG Tingyan, LIU Jiushi, DONG Yuqing, *et al.* Transcriptome sequencing and chemical analysis reveal the formation mechanism of white florets in *Carthamus tinctorius* L. [J/OL]. *Plants*, 2020, 9(7): 847 [2025-04-09]. DOI: [10.3390/plants9070847](https://doi.org/10.3390/plants9070847).
- [31] ZOU Hongzhu, HAN Lulu, YUAN Meng, *et al.* Sequence analysis and functional verification of the effects of three key structural genes, *PdTHC2'GT*, *PdCHS* and *PdCHI*, on the isosalipurposide synthesis pathway in *Paeonia delavayi* var. *lutea* [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(10): 5696 [2025-04-09]. DOI: [10.3390/ijms23105696](https://doi.org/10.3390/ijms23105696).
- [32] JIANG Tao, GUO Kunyuan, LIU Lingdi, *et al.* Integrated transcriptomic and metabolomic data reveal the flavonoid biosynthesis metabolic pathway in *Perilla frutescens* (L.) leaves [J/OL]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 16207 [2025-04-09]. DOI: [10.1038/s41598-020-73274-y](https://doi.org/10.1038/s41598-020-73274-y).
- [33] LIU Jia, HAO Xilong, HE Xueqin. Characterization of three *Chalcone* synthase-like genes in *Dianthus chinensis* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2021, 146(3): 483–492.
- [34] WANG Cuicui, FU Daqi. Virus-induced gene silencing of the eggplant *Chalcone* synthase gene during fruit ripening modifies epidermal cells and gravitropism [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(11): 2623–2629.
- [35] XIE Ziwei, YANG Lei, FAN Mi, *et al.* Genome-wide identification, characterization and expression analysis of the chalcone synthase gene family in Chinese cabbage [J/OL]. *BMC Genomics*, 2025, 26(1): 168 [2025-04-09]. DOI: [10.1186/s12864-025-11334-1](https://doi.org/10.1186/s12864-025-11334-1).