

## 木薯查尔酮合酶 MeCHS 基因家族特征与表达分析

安飞飞<sup>1,2</sup>, 齐剑雄<sup>1</sup>, 陈松笔<sup>2</sup>, 罗秀芹<sup>1</sup>, 蔡杰<sup>2</sup>, 薛晶晶<sup>2\*</sup>

1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业农村部木薯种质资源保护与利用重点实验室, 海南海口 571101;  
2. 中国热带农业科学院三亚研究院, 海南三亚 572025

**摘要:** 查尔酮合酶 (chalcone synthase, CHS) 是类黄酮合成途径的第一个限速酶, 在植物花色形成、生长发育以及非生物胁迫中发挥着重要作用。为明确木薯 MeCHS 基因家族的特性及在木薯块根采后腐烂 (PPD) 中的表达, 本研究利用生物信息学方法对木薯 MeCHS 基因家族成员进行理化性质、蛋白质结构等分析。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 MeCHS 基因在不同品种、不同组织及块根 PPD 过程中的表达情况, 同时克隆并构建 3 个高表达的 MeCHS 基因的亚细胞定位载体并进行烟草瞬时转化以确定其定位。在木薯基因组中共鉴定出 5 个 MeCHS 基因家族成员, 蛋白质二级结构以  $\alpha$ -螺旋和不规则卷曲为主。qRT-PCR 分析发现: MeCHS 基因表达具有明显的组织特异性, 在茎中表达水平最高; 在木薯中主要表达的 MeCHS 基因为 MeCHS1、MeCHS2 和 MeCHS3, 且 3 个基因随着 SC8 块根贮藏时间的延长表达量逐步升高。将成功克隆得到的 MeCHS1、MeCHS2 和 MeCHS3 基因经农杆菌介导瞬时转化烟草下表皮细胞, 显微观察表明 3 个基因均定位于细胞质, 与预测结果相符。该研究结果可为进一步揭示木薯 MeCHS 基因家族的功能与提高木薯块根耐 PPD 能力提供理论依据。

**关键词:** 木薯; 查尔酮合酶; qRT-PCR; 克隆; 表达分析

中图分类号: S533; S435.33 文献标识码: A

## Characteristics and Expression Analysis Of Chalcone Synthase MeCHS Family in Cassava

AN Feifei<sup>1,2</sup>, QI Jianxiong<sup>1</sup>, CHEN Songbi<sup>2</sup>, LUO Xiuqin<sup>1</sup>, CAI Jie<sup>2</sup>, XUE Jingjing<sup>2\*</sup>

1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Conservation and Utilization of Cassava Germplasm Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China; 2. Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya, Hainan 572025, China

**Abstract:** Chalcone synthase (CHS) is the first limiting enzyme in flavonoid synthesis pathway and plays an important role in flower color formation, growth and development, and abiotic stress. In order to clarify the characteristics of cassava MeCHS gene family and its expression in cassava postharvest physiological deterioration (PPD), the MeCHS gene family was analyzed using bioinformatics, including physicochemical property and subcellular location. qRT-PCR was carried out to detect the expression levels of MeCHS genes in different varieties, different tissues and PPD process. The genes with significant relative expression were selected for cloning and subcellular localization verification. A total of 5 MeCHS gene members were identified in the cassava genome. The secondary structure analysis showed that the MeCHS gene family was mainly composed of  $\alpha$ -helices and random coils. Tissue specific expression indicated that the expression levels of MeCHS genes were higher in stems. The major expressed MeCHS genes in cassava were MeCHS1, MeCHS2 and MeCHS3; and the expression levels of these three genes were gradually increase with PPD. MeCHS1, MeCHS2 and MeCHS3 were successfully cloned; and fluorescence transient expression showed that MeCHS1, MeCHS2 and MeCHS3 were localized in the cytoplasm, which was consistent with the predicted results. This study will provide a theoretical basis for further revealing the function of MeCHS gene family and improving the PPD tolerance of cassava.

收稿日期 2023-07-12; 修回日期 2023-07-17

基金项目 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630052023016); 海南省自然科学基金项目 (No. 320MS100)。

作者简介 安飞飞 (1983—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 木薯生物育种。\*通信作者 (Corresponding author): 薛晶晶 (XUE Jingjing), E-mail: xuetao608@163.com。

**Keywords:** cassava; chalcone synthase; qRT-PCR; cloning; expression analysis

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.12.003

类黄酮是植物体内广泛存在的一类重要的次生代谢物, 主要包括花青素、异黄酮、黄酮醇等。查尔酮合酶 (CHS) 是催化类黄酮生物合成的第一个限速酶, 催化 4-香豆酰辅酶 A 与丙酰 CoA 生成 4,5,7-三羟基黄酮, 产生各种黄酮类化合物, 也可在查尔酮异构酶的催化下衍生成各类黄酮化合物<sup>[1]</sup>。目前 CHS 基因在拟南芥、水稻、甜橙、铁皮石斛、苹果、虎杖等物种中得到鉴定和克隆<sup>[2-7]</sup>。CHS 基因也参与植物对非生物胁迫的响应, 对花色形成、生长发育、激素调节都会产生影响<sup>[8]</sup>。研究发现 CHS 基因的表达受茉莉酸甲酯、脱落酸、水杨酸的诱导<sup>[9-11]</sup>, 同时过表达该类基因可提高植物的耐盐及耐旱性<sup>[12-13]</sup>。

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 是世界亚热带和热带地区近 10 亿人的主要粮食作物, 在我国“一带一路”倡议中发挥积极作用<sup>[14]</sup>。木薯块根在收获后 1~3 d 就开始发生腐烂, 称为“采后生理腐烂” (postharvest physiological deterioration, PPD)<sup>[15]</sup>。木薯 PPD 是由块根收获时的机械伤害引起的一系列生理生化反应, 属于植物非生物胁迫的一种。伤害可诱导类黄酮化合物积累<sup>[16-17]</sup>, 表儿茶素可以作为 PPD 的标记代谢物<sup>[18]</sup>, 柚皮苷和山奈酚可抑制 PPD 过程中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性<sup>[19]</sup>, 但具体的作用机制尚未明晰。推测块根类黄酮代谢物积累抑制了机械伤害带来的活性氧 (ROS) 爆发, 进而延缓块根 PPD 发生。CHS 作为类黄酮生物合成的第一个限速酶, 了解其结构特征及其表达特性对探索类黄酮生物合成以及木薯块根发生腐烂的遗传调控至关重要。目前, 木薯 CHS 基因家族尚未报道, 且其在木薯块根 PPD 调控中的机制研究甚少, 前期研究发现抑制木薯 *MeCHS3* 的表达, 其块根 PPD 程度显著加快<sup>[17]</sup>。因此, 本研究利用木薯和拟南芥植物基因组数据库, 通过生物信息学方法筛选和鉴定木薯 CHS 基因家族成员, 并对木薯 CHS 基因家族各成员的理化性质、亚细胞定位等进行分析, 初步揭示其不同品种、不同组织及块根 PPD 中的表达模式, 同时鉴定 *MeCHS1~MeCHS3* 的亚细胞定位, 为进一步揭示木薯 CHS 基因家族功能和提高木薯块根的耐 PPD 能力奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本研究所选用的木薯材料为木薯品种 SC5、SC8、SC9、SC14、SC102 和 SC6068, 采自中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所国家木薯种质资源圃。花、叶片、叶柄、腋芽、茎、须根、脆性胚性愈伤组织 (FEC)、块根等不同组织均来自于 SC8。SC8 于 2022 年 3 月种植于国家木薯种质资源圃 (儋州), 植后 10 个月的木薯块根用于 PPD 观察。用于亚细胞定位的本生烟由本实验室保存。

### 1.2 方法

**1.2.1 MeCHS 基因家族的序列获得和比对** 从拟南芥基因组网站 TAIR (<https://www.Arabidopsis.org/>) 下载 CHS 基因的编码序列, 导入木薯基因组数据库进行 BLAST 搜索, 下载木薯 CHS 基因全长、CDS 和蛋白序列。同时使用 DNAMAN 软件对木薯 CHS 基因家族成员的氨基酸序列进行多重比对, 利用 HMMER 在线软件 (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/>) 对木薯 CHS 基因家族成员进行结构域筛选, 剔除不含特定结构域的基因。

**1.2.2 MeCHS 基因家族理化性质分析** 利用 Expasy 在线软件 (<https://web.expasy.org/prot-param/>) 分析 *MeCHS* 基因的理化性质。运用 Cell-PLoc 2.0 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>) 和 Prabi (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 在线软件分别预测 MeCHS 基因家族成员的亚细胞定位和  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角、不规则卷曲等二级结构。利用 SignalP (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-5.0/>) 在线软件进行蛋白质信号肽预测。

**1.2.3 MeCHSs 在不同组织、不同品种及 PPD 中的表达分析** 参照 RNAPrep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (DP441, 天根) 提取 SC8 不同组织 [花、幼叶、嫩叶、老叶、叶柄、腋芽、茎、须根、FEC、贮藏根 (4 个月、7 个月、10 个月)]、不同品种叶片 (SC5、SC8、SC9、SC14、SC102、SC6068) 以及 SC8 采后贮藏过程中的块根 (0、1、3、5、7 d) 总 RNA。cDNA 第一链的合成参照 Thermo Scientific RevertAid RT 试剂盒 (K1691, 赛默飞) 说明书进行。设计 *MeCHSs*

的 qRT-PCR 特异引物 (表 1), 以 *MeActin* 基因为内参, 进行 qRT-PCR 反应, 每个样品重复测定 3 次, 使用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  法计算 *MeCHSs* 的相对表达情况。

1.2.4 木薯 *MeCHS* 亚细胞定位 设计 *MeCHS1*、*MeCHS2* 和 *MeCHS3* 的全长扩增引物 (表 1), 以 SC8 叶片 cDNA 为模板, 扩增 *MeCHS* 片段, 经回收后, 采用 Nimble Cloning 试剂盒将片段与

pNC-Green-SubN 空载体连接, 具体操作过程参照 YAN 等<sup>[20]</sup>的方法。经过转化 Top10 感受态细胞、PCR 筛选阳性单克隆, 测序验证正确后的载体即为亚细胞定位所需的重组载体, 测序引物如表 1 所示。瞬时转化烟草, 3 d 后使用激光共聚焦显微镜观察 *MeCHS* 的定位情况, 具体操作过程参照 AN 等<sup>[21]</sup>的方法。

表 1 *MeCHS* 基因家族 qRT-PCR 定量引物及亚细胞定位引物  
Tab. 1 Primers sequence for qRT-PCR and subcellular location of *MeCHSs*

引物名称 Primer name	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')
qPCR-MeCHS1	CCAATAGTGAGCACAAGA	CCAATGAAGGAGCCATAT
qPCR-MeCHS2	TTGGATTTCGTTGGTAGGT	CGCTCAATGGAAGTATCAG
qPCR-MeCHS3	TGATTATCTGATTATTACTTC	CCACTACAATATCTCTGAC
qPCR-MeCHS4	TATCAACAACCTGGAAGCTC	CTTAGAATATGCCTGGTT
qPCR-MeCHS5	TGAATGGTATGGAAGAGAA	ATGAAGAACACAGATGGA
qPCR-Actin	TGATGAGTCTGGTCCATCCA	CCTCCTACGACCCAATCTCA
SubN-MeCHS1	agtgtctctgtccagtct ATGGTGACTGTAGATGAAGT	ggtctcagcagaccacaagt TCAAGTGGCCACGCTGTGGA
SubN-MeCHS2	agtgtctctgtccagtct ATGGCTGCTTCGGTAGAAGA	ggtctcagcagaccacaagt TCAGTAAGCCGTCGTTTCGG
SubN-MeCHS3	agtgtctctgtccagtct ATGGCTGCTGCTTCAGTAGA	ggtctcagcagaccacaagt TCATGTGGAGACACTGTGCA

注: 小写字母代表接头序列。

Note: Lowercase letters represent joint sequences.

### 1.3 数据处理

采用 Excel 2013 和 DPS v7.05 统计软件对数据进行分析, 差异显著性标准采用新复极差法 (Duncan)。

## 2 结果与分析

### 2.1 *MeCHS* 基因家族成员理化性质分析

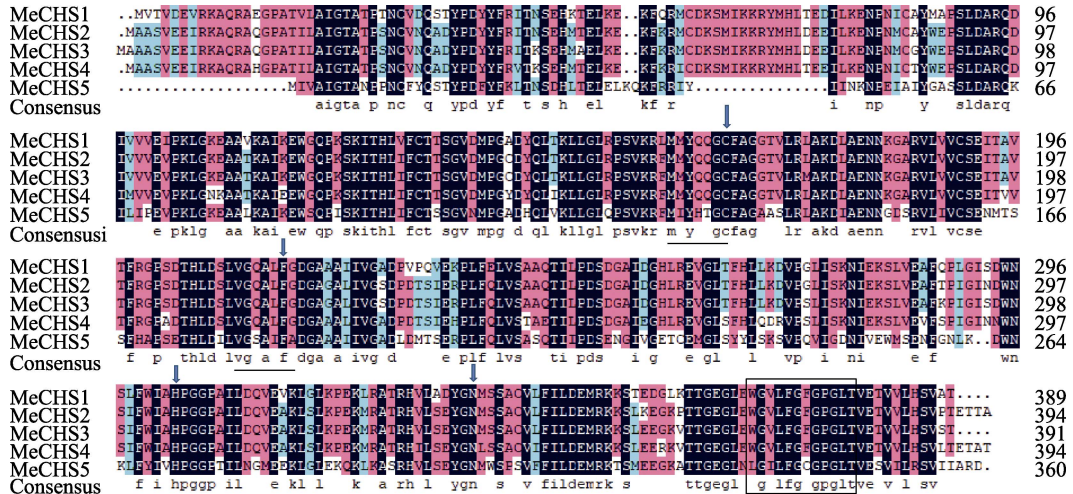
从木薯基因组中共鉴定到 5 个 *CHS* 家族基因, 分别命名为 *MeCHS1*~*MeCHS5*。通过氨基酸序列比对分析发现, *MeCHS* 蛋白序列相似性为 48.60%, 5 个 *MeCHS* 均含 *CHS* 基因家族的 4 个保守活性位点氨基酸残基 (箭头位置), 4 个 *MeCHS* 均含 *CHS* 基因家族特征氨基酸序列 WGVLFGFGPGLT (黑色方框), 而 *MeCHS5* 特征氨基酸序列为 LGILFGCGPGLT (图 1)。由表 2 可知, 5 个 *MeCHS* 蛋白的编码氨基酸数目基本相同, 在 390 个左右; 分子质量均在 43.00 kDa 左右, 理论等电点在 6.03~6.34 之间。在 5 个 *MeCHS* 蛋白中, *MeCHS4* 蛋白和 *MeCHS5* 蛋白的不稳定指数均大于 40.0, 属于不稳定蛋白。

### 2.2 *MeCHS* 蛋白质二级结构分析及亚细胞定位预测

利用 Prabi 工具进行 *MeCHS* 蛋白质的二级结构分析, 结果如表 3 所示。5 个 *MeCHS* 蛋白均以  $\alpha$ -螺旋 (占比 43.48%~48.34%) 和不规则卷曲 (占比 32.22%~35.19%) 为主, 其次有延伸链和  $\beta$ -转角, 且各类二级结构所占比例相近, 说明木薯 *MeCHS* 蛋白家族的 5 个蛋白质二级结构非常相似。利用 SingalP 5.0 软件在线分析表明, 5 个 *MeCHS* 蛋白均没有信号肽。亚细胞定位预测结果显示, 5 个 *MeCHS* 蛋白在细胞质中表达 (表 3)。

### 2.3 *MeCHS* 基因家族表达分析

2.3.1 不同木薯品种中 *MeCHSs* 基因的表达分析  
*MeCHS* 基因在不同木薯品种 (SC5、SC8、SC9、SC14、SC102、SC6068) 叶片中的表达如图 2 所示。结果显示, 以 SC5 叶片为对照, *MeCHS2* 和 *MeCHS3* 在 SC8 的叶片中表达最高, *MeCHS1* 和 *MeCHS4* 在 SC14 的叶片中表达最高, *MeCHS5* 在不同品种的叶片中几乎均不表达。结果表明 *MeCHS* 基因的表达具有明显的品种差异性。



横线表示活性位点所在序列；箭头表示活性结合位点；黑色框内是 CHS 基因家族序列标签。

Underline: Conserved sequence of activesite; Arrows: Active center; Chalcone synthase family sequence label are in black frame.

图 1 MeCHS 多重序列比对分析

Fig. 1 Multiple sequence alignment of the predicted MeCHS

表 2 MeCHS 基因家族理化性质

Tab. 2 Physical and chemical properties of MeCHS gene family

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	CDS 长度 CDS length/bp	氨基酸数 Amino acid number	分子量 Molecular weight/kDa	等电点 Isoelectric point	不稳定指数 Instability index
<i>MeCHS1</i>	Manes.03G150000	1170	389	42.42	6.17	33.41
<i>MeCHS2</i>	Manes.04G094200	1188	395	43.38	6.18	34.27
<i>MeCHS3</i>	Manes.11G075100	1176	391	42.89	6.34	34.64
<i>MeCHS4</i>	Manes.11G075200	1188	395	43.64	6.29	42.35
<i>MeCHS5</i>	Manes.18G083400	1176	391	42.96	6.03	40.00

表 3 MeCHS 蛋白亚细胞定位预测和蛋白质二级结构分析

Tab. 3 The secondary structure and subcellular location prediction of MeCHS protein

蛋白名称 Protein name	α-螺旋占比 α-helix proportion/%	β-转角占比 β-turn proportion/%	不规则卷曲占比 Random coil proportion/%	延伸链占比 Isoelectric point proportion/%	亚细胞定位预测 Subcellular location prediction
MeCHS1	45.50	5.40	34.70	14.40	Cytoplasm
MeCHS2	44.81	5.32	35.19	14.68	Cytoplasm
MeCHS3	43.48	6.90	34.27	15.35	Cytoplasm
MeCHS4	45.82	6.84	33.67	13.67	Cytoplasm
MeCHS5	48.34	5.63	32.22	13.81	Cytoplasm

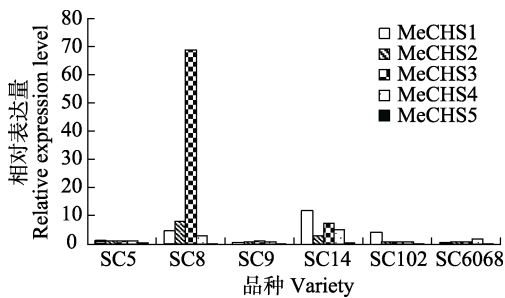


图 2 MeCHSs 在木薯不同组织中的特异性表达

Fig. 2 Specific expression of MeCHS genes in different tissues

2.3.2 *MeCHSs* 在叶片、茎等不同组织中的表达分析 利用木薯品种 SC8 不同组织(叶片、叶柄、腋芽、茎、花、FEC、须根、块根)的 cDNA 进行 *MeCHS* 基因表达检测。qRT-PCR 分析结果显示,以 SC8 叶片为对照, *MeCHS1*、*MeCHS2* 和 *MeCHS3* 在木薯茎中表达量最高,腋芽和花次之,在叶柄、须根和块根表达量较低,具有明显的组织特异性。*MeCHS4* 和 *MeCHS5* 在 SC8 各个组织中表达量均不高(图 3)。

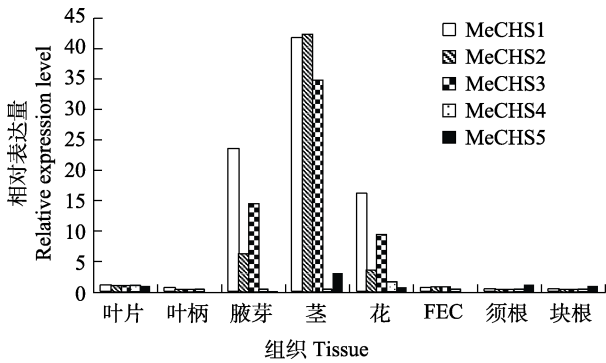


图 3 *MeCHSs* 在木薯不同组织中的特异性表达

Fig. 3 Specific expression of *MeCHS* genes in different tissues

2.3.3 *MeCHSs* 在木薯块根采后腐烂过程中的表达分析 在 SC8 块根采后不同时间 (0、1、3、5、7 d) 对 *MeCHS* 基因家族成员进行 qRT-PCR 分析 (图 4)。*MeCHS1*、*MeCHS2* 和 *MeCHS3* 随着 SC8 块根贮藏时间的延长表达量逐步升高, 其中 *MeCHS2* 上升幅度最大, *MeCHS4* 和 *MeCHS5* 在 SC8 木薯块根贮藏过程中几乎无变化, 推测 *MeCHS1*、*MeCHS2* 和 *MeCHS3* 参与块根 PPD 调控过程。

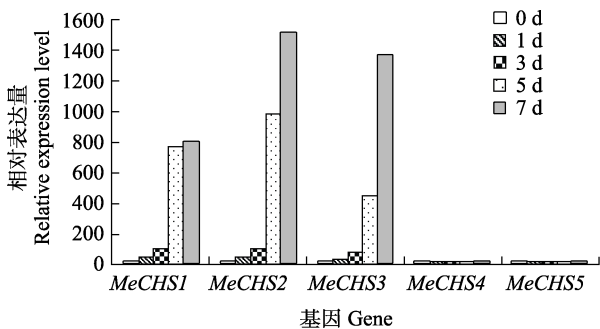
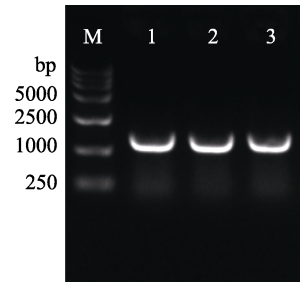


图 4 *MeCHSs* 在木薯块根 PPD 中的表达分析

Fig. 4 Expression analysis of *MeCHS* genes during PPD process in cassava tuberous roots

### 2.4 *MeCHSs* 克隆及亚细胞定位

根据已经获得的 *MeCHS1*~*MeCHS3* 基因的 CDS 区在线设计基因特异性引物, 以 SC8 块根 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测得到 1200 bp 大小的特异条带 (图 5), 经比对, 克隆获得的 *MeCHS2* 和 *MeCHS3* 基因的 CDS 序列与 Phytozome 木薯基因组公布数据一致, 而 *MeCHS1* 基因的 CDS 序列与数据库存在 4 个碱基变化, 但是不影响编码的蛋白质序列, 这可能是由于不同木薯品种导致的碱基差异。



M: DL15000 DNA marker; 1: *MeCHS1*; 2: *MeCHS2*; 3: *MeCHS3*.

图 5 *MeCHSs* 的 PCR 扩增结果

Fig. 5 PCR amplification result of *MeCHSs*

为进一步确认 *MeCHS1*~*MeCHS3* 蛋白的亚细胞定位, 将携带 35S::GFP::*MeCHS1*~*MeCHS3* 质粒的农杆菌注射烟草叶片下表皮, 3 d 后取注射部位周边直径 1 cm 范围内的叶片, 在激光共聚焦显微镜下观察叶片下表皮细胞中绿色荧光蛋白的定位, 结果如图 6 所示。绿色荧光信号表明 35S::GFP::*MeCHS1*~*MeCHS3* 融合蛋白均集中在细胞质中, 该结果与亚细胞定位预测结果一致。

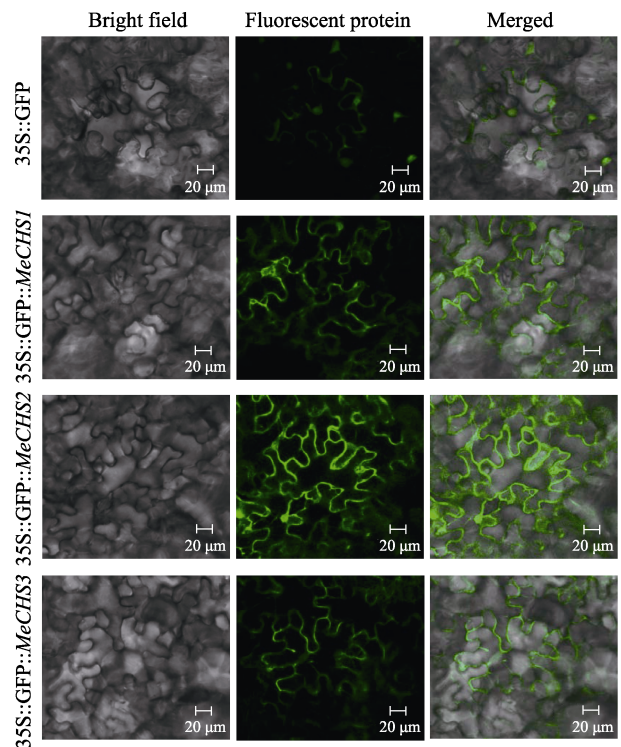


图 6 *MeCHS1*~*MeCHS3* 基因在本氏烟草下表皮细胞中的亚细胞定位

Fig. 6 Subcellular localization of *MeCHS1*~*MeCHS3* in the lower epidermal cells of *Nicotiana benthamiana*

### 3 讨论

CHS 是植物类黄酮合成途径中的关键酶, 也

是与苯丙酮代谢有关的酶。到目前为止, 已从白木香<sup>[22]</sup>、矮牵牛<sup>[23]</sup>等物种中分离鉴定出 *CHS* 基因, 其中双子叶植物中的 *CHS* 基因家族数目较多, 如辣椒中有 7 个 *CHS* 基因<sup>[24]</sup>, 番茄中有 8 个 *CHS* 基因<sup>[25]</sup>, 而在木薯中鉴定出 5 个 *MeCHS* 基因。由此可见, 不同物种中 *CHS* 基因在数量上存在差异, 这可能与不同物种基因组大小及物种进化有关。通过生物信息学对 *MeCHS* 蛋白质进行理化性质分析, 发现 *MeCHS1*、*MeCHS2* 和 *MeCHS3* 蛋白的理化性质并无太大差别, 而 *MeCHS4*、*MeCHS5* 蛋白在蛋白稳定性上差别较大, 属于不稳定蛋白, 这可能是 *MeCHS4* 与 *MeCHS5* 基因在 SC8 木薯各组织及块根 PPD 过程中不表达的原因。

对木薯 *CHS* 基因家族进行蛋白质二级结构预测发现, *MeCHS* 蛋白二级结构以  $\alpha$ -螺旋和无规卷曲为主,  $\beta$ -转角则相对较少, 这一结果与葡萄 *CHS* 蛋白的研究结果一致<sup>[26]</sup>。亚细胞定位预测显示, 木薯 *CHS* 蛋白主要定位于细胞质中, 烟草瞬时转化显示 *MeCHS1*、*MeCHS2* 和 *MeCHS* 定位于细胞质中, 与预测结果相符, 这与红仁核桃中 *JrCHS* 蛋白质的定位结果一致<sup>[27]</sup>。章妮等<sup>[28]</sup>研究发现毛竹 *CHS* 蛋白定位于内质网, 少数定位于细胞质。木薯 *CHS* 基因可能大多在细胞质中起作用, 但是不同物种中 *CHS* 基因家族成员在细胞器中的分布也存在一定差异。

*CHS* 基因的表达与器官形态建成、功能分化有着密切关系, 由于表达模式的差异, 使其表达具有组织特异性<sup>[26]</sup>。研究表明人参 *CHS* 基因主要在叶片中表达<sup>[9]</sup>, 杧果 *CHS1* 基因的相对表达量在叶和花中较高<sup>[29]</sup>, 葡萄 *CHS* 基因主要在根中表达<sup>[26]</sup>。利用 qRT-PCR 技术研究 *MeCHS* 基因在木薯不同品种以及不同组织中的表达情况, 结果发现在木薯中表达的 *MeCHS* 基因主要为 *MeCHS1*、*MeCHS2* 和 *MeCHS3*, 且木薯 *CHS* 基因在茎中表达最高, 该基因家族中 *MeCHS4* 和 *MeCHS5* 在各组织中的表达水平均较低。*MeCHSs* 在不同品种中的表达也不尽相同, 在 SC8 叶片中的表达最高。这与前人的研究结果有相似之处, 但是也存在一定的差异, 表明不同物种 *CHS* 基因家族成员在不同品种、不同组织中的表达水平不尽相同。

木薯块根 PPD 是由收获时的机械伤害引起的腐烂变质, 属于非生物胁迫的一种。AN 等<sup>[17]</sup>研究发现大部分类黄酮代谢相关基因表达随着 PPD

程度升高, 包括 *MeCHS* 基因, 这与本研究中 *MeCHS* 在 SC8 块根储存不同时期的表达一致, 且沉默 *MeCHS3* 基因后, 块根变质率显著升高, 表明 *MeCHS3* 与木薯块根耐 PPD 能力呈正相关<sup>[17]</sup>。推测在木薯块根在受到机械伤害后, *MeCHS* 可通过上调表达进而增加木薯块根中类黄酮含量, 可通过 ROS 清除延缓木薯块根 PPD 的发生<sup>[30]</sup>。后续可通过在木薯中过表达 *MeCHS* 基因进而提高木薯块根的耐 PPD 能力。本研究为进一步深入研究 *MeCHS* 基因在木薯块根 PPD 调控中的功能奠定基础, 同时也可作为木薯转基因育种提供一定的参考。

## 参考文献

- [1] WANG Z B, YU Q B, SHEN W X, EL MOHTAR C A, ZHAO X C, GMITTER F G. Functional study of *CHS* gene family members in citrus revealed a novel *CHS* gene affecting the production of flavonoids[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 189.
- [2] WANG W K, SCHAAL B A, CHIOU Y M, MURAKAMI N, GE X J, HUANG C C, CHIANG T Y. Diverse selective modes among orthologs/paralogs of the chalcone synthase (*Chs*) gene family of *Arabidopsis thaliana* and its relative *A. halleri* ssp. *gemma*[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2007, 44 (2): 503-520.
- [3] HAN Y H, CAO Y P, JIANG H Y, DING T. Genome-wide dissection of the chalcone synthase gene family in *Oryza sativa*[J]. *Molecular Breeding*, 2017, 37(10): 119.
- [4] 孟衡玲, 张薇, 卢丙越, 苏一兰, 薛春丽. 铁皮石斛查尔酮合酶基因克隆与表达分析[J]. *南方农业学报*, 2016, 47(12): 2015-2019.  
MENG H L, ZHANG W, LU B Y, SU Y L, XUE C L. Cloning and expression of chalcone synthase gene from *Dendrobium officinale*[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2016, 47(12): 2015-2019. (in Chinese)
- [5] YAHYAA M, ALI S, DAVIDOVICH-RIKANATI R, IBDAH M, IBDAH M, SHACHTIER A, EYAL Y, LEWINSOHN E, IBDAH M. Characterization of three chalcone synthase-like genes from apple (*Malus domestica* Borkh.)[J]. *Phytochemistry*, 2017, 140: 125-133.
- [6] LU X, ZHOU W, GAO F. Cloning, characterization and localization of *CHS* gene from blood orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Ruby[J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36(7): 1983-1990.
- [7] MA L Q, PANG X B, SHEN H Y, PU G B, WANG H H, LEI C Y, WANG H, LI G Y, LIU B Y, YE H C. A novel type III

- polyketide synthase encoded by a three-intron gene from *Polygonum cuspidatum*[J]. *Planta*, 2009, 229(3): 457-469.
- [8] DAO T T H, LINTHORST H J M, VERPOORTE R. Chalcone synthase and its functions in plant resistance[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2011, 10(3): 397-412.
- [9] 张变玲, 黄雪梅, 刘心怡, 谢彪, 黄合庆, 张儒. 人参查尔酮合成酶基因 *PgCHS1* 的克隆与表达分析[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(12): 2010-2017.  
ZHANG B L, HUANG X M, LIU X Y, XIE B, HUANG H Q, ZHANG R. Cloning and expression analysis of chalcone synthase gene *PgCHS1* in *Panax ginseng*[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2018, 40(12): 2010-2017. (in Chinese)
- [10] 何春艳, 甘露, 闫蒙举, 张兰, 苏浩天, 尹淑霞. 草地早熟禾查尔酮合成酶基因 *PpCHS1* 克隆、功能与表达分析[J]. *中国草地学报*, 2018, 40(4): 8-15.  
HE C Y, GAN L, YAN M J, ZHANG L, SU H T, YIN S X. Cloning, functional and expression analysis of chalcone synthase gene *PpCHS1* in *Kentucky bluegrass*[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2018, 40(4): 8-15. (in Chinese)
- [11] 马立功, 张匀华, 孟庆林, 石凤梅, 刘佳, 李易初, 王志英. 向日葵查尔酮合成酶 *HaCHS* 基因的克隆与逆境应答[J]. *中国油料作物学报*, 2016, 38(1): 19-26.  
MA L G, ZHANG Y H, MENG Q L, SHI F M, LIU J, LI Y C, WANG Z Y. Cloning and stress response of chalcone synthase gene in sunflower (*Helianthus annuus*)[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2016, 38(1): 19-26. (in Chinese)
- [12] WANG C H, ZHI S, LIU C Y, XU F X, ZHAO A C, WANG X L, TANG X, LI Z G, HUANG P, YU M D. Isolation and characterization of a novel chalcone synthase gene family from mulberry[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 115: 107-118.
- [13] CHEN L J, GUO H M, LIN Y, CHENG H M. Chalcone synthase *EaCHS1* from *Eupatorium adenophorum* functions in salt stress tolerance in tobacco[J]. *Plant Cell Reports*, 2015, 34(5): 885-894.
- [14] 曹升, 陈江枫, 黄富宇, 严华兵, 韦朝念, 李富山. 广西木薯产业现状分析及其发展建议[J]. *南方农业学报*, 2021, 52(6): 1468-1476.  
CAO S, CHEN J F, HUANG F Y, YAN H B, WEI C N, LI F S. Development status and countermeasures of cassava industry in Guangxi[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(6): 1468-1476. (in Chinese)
- [15] 安飞飞, 薛晶晶, 韦卓文, 陈松笔.  $\alpha$ -甘露糖苷酶与木薯块根采后生理变质的关系研究[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(2): 165-169.  
AN F F, XUE J J, WEI Z W, CHEN S B. Relationship between  $\alpha$ -mannosidase and postharvest physiological deterioration of cassava tuberous roots[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(2): 165-169. (in Chinese)
- [16] LIN N, LIU X, ZHU W, CHENG X, LIU L. Ambient ultraviolet B signal modulates tea flavor characteristic via shifting a metabolic flux in flavonoid biosynthesis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(11): 3401-3414.
- [17] AN F F, CUI M J, CHEN T, CHENG C, LIU Z, LUO X, XUE J J, TANG Y Q, CAI J, CHEN S B. Flavonoid accumulation modulates the responses of cassava tuberous roots to postharvest physiological deterioration[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2023, 198: 112254.
- [18] ZAINUDDIN I M, FATHONI A, SUDARMONOWATI E, BEECHING J R, GRUISSEM W, VANDERSCHUREN H. Cassava post-harvest physiological deterioration: from triggers to symptoms[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2018, 142: 115-123.
- [19] SRINIVASAN E, RAJASEKARAN R. Comparative binding of kaempferol and kaempferide on inhibiting the aggregate formation of mutant (G85R) SOD1 protein in familial amyotrophic lateral sclerosis: a quantum chemical and molecular mechanics study[J]. *Biofactors*, 2018, 44(5): 431-442.
- [20] YAN P, ZENG Y, SHEN W, TUO D, ZHOU P. Nimble cloning: a simple, versatile, and efficient system for standardized molecular cloning[J]. *Frontiers in Bioengineering Biotechnology*, 2020, 7: 460.
- [21] AN F, XIAO X, CHEN T, XUE J J, LUO X, OU W J, LI K M, CAI J, CHEN S B. Systematic analysis of bHLH transcription factors in cassava uncovers their roles in postharvest physiological deterioration and cyanogenic glycosides biosynthesis[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 901128.
- [22] 汪孟曦, 李文兰, 张争, 魏建和, 杨云, 徐艳红, 梁良. 白木香查尔酮合成酶(*AsCHS1*)基因的克隆和生物信息学分析[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(2): 149-153.  
WANG M X, LI W L, ZHANG Z, WEI J H, YANG Y, XU Y H, LIANG L. Cloning and bioinformatics analysis of chalcone synthase (*AsCHS1*) gene in *Aquilaria sinensis*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2013, 38(2): 149-153. (in Chinese)
- [23] 汪结明, 王凤玲, 李瑞雪, 魏万亮. 矮牵牛的查尔酮合成酶(*CHS*)基因的生物信息学分析[J]. *农学学报*, 2011, 1(4): 34-39.  
WANG J M, WANG F L, LI R X, WEI W L. Analysis on bioinformatics of chalcone synthetase gene in *Petunia hybrida* Vilm.[J]. *Journal of Agriculture*, 2011, 1(4): 34-39. (in Chinese)
- [24] 徐婉莉, 裴徐梨, 荆赞革, 熊自立. 辣椒查尔酮合成酶基因家族全基因组鉴定及表达特征分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2015, 34(8): 1747-1752.

- XU W L, PEI X L, JING Z G, XIONG Z L. Genome-wide identification and expression analysis of chalcone synthase gene in pepper[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2015, 34(8): 1747-1752. (in Chinese)
- [25] SCHIJLEN E G W M, RIC DE VOS C H, MARTENS S, JONKER H H, ROSIN F M, MOLTHOFF J W, TIKUNOV Y M, ANGENENT G C, VAN TUNEN A J, BOVY A G. RNA interference silencing of chalcone synthase, the first step in the flavonoid biosynthesis pathway, leads to parthenocarpic tomato fruits[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144(3): 1520-1530.
- [26] 成永娟, 张明月, 曹雪璟, 毛娟, 陈佰鸿. 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 Y J, ZHANG M Y, CAO X J, MAO J, CHEN B H. Identification and expression analysis of CHS gene family in grape[J]. *Journal of Fruit Science*, 2023, 40(5): 861-874. (in Chinese)
- [27] 赵伟, 李琳, 刘永辉, 章露露, 杨莹, 孟海军, 王磊, 吴国良. 红仁核桃自然杂交后代不同表型叶片差异表达 *CHS* 基因的鉴定及生物信息学分析[J]. *果树学报*, 2021, 38(2): 179-191. ZHAO W, LI L, LIU Y H, ZHANG L L, YANG Y, MENG H J, WANG L, WU G L. Identification and bioinformatics analysis of *CHS* genes in different phenotypic leaves of natural hybrid progenies of red-kernel walnut[J]. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38(2): 179-191. (in Chinese)
- [28] 章妮, 暴涵, 崔博亮, 陈克龙. 毛竹查尔酮合成酶基因家族全基因组分析[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(3): 817-825. ZHANG N, BAO H, CUI B L, CHEN K L. Genomic analysis of chalcone synthase gene family of *Phyllostachys edulis*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(3): 817-825. (in Chinese)
- [29] 梅志栋, 张贺, 刘晓妹, 黄建峰, 蒲金基. 杧果查尔酮合成酶基因(*CHSI*)的克隆与表达分析[J]. *果树学报*, 2015, 32(6): 1077-1084. MEI Z D, ZHANG H, LIU X M, HUANG J F, PU J J. Cloning and expression analysis of chalcone synthase gene (*CHSI*) from mango[J]. *Journal of Fruit Science*, 2015, 32(6): 1077-1084. (in Chinese)
- [30] 赵继发, 沙伟, 马天意. 类黄酮物质在植物逆境胁迫中的研究进展[J]. *高师理科学刊*, 2021, 41(7): 53-59. ZHAO J F, SHA W, MA T Y. Research progress of flavonoids in plant stresses[J]. *Journal of Science of Teachers College and University*, 2021, 41(7): 53-59. (in Chinese)