

张明浩, 王爱凡, 龚林涛, 等. 芳樟醇合酶基因(*LIS*)在薰衣草萜类物质合成中的功能分析[J]. 江苏农业学报, 2026, 42(4): 808-816.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2026.04.017

芳樟醇合酶基因 (*LIS*) 在薰衣草萜类物质合成中的功能分析

张明浩, 王爱凡, 龚林涛, 苏秀娟

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

摘要: 为探究芳樟醇合酶基因(*LIS*)在薰衣草萜类物质代谢调控中的功能,本研究采用农杆菌介导法对高产精油品种杂薰衣草(*Lavandula×intermedia*)叶片进行遗传转化,获得过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株;通过分析其萜类合成途径中相关基因的表达量以及萜类化合物含量的变化,验证 *LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因在薰衣草中的功能。结果表明,与野生型(WT)薰衣草相比,过表达 *LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因均能显著提升薰衣草中单萜芳樟醇和薰衣草醇的含量 ($P<0.05$),同时过表达 *LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因植株中类胡萝卜素含量不同程度提升;而单萜乙酸薰衣草酯含量不同程度下降,过表达 *LiLIS2* 基因植株中樟脑含量显著下降 ($P<0.05$)。因此,*LiLIS* 基因在薰衣草萜类物质代谢合成中发挥重要作用,本研究结果可以为薰衣草品种改良提供理论基础及基因资源。

关键词: 芳樟醇合酶基因(*LIS*); 薰衣草; 萜类物质

中图分类号: TQ654 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2026)04-0808-09

Functional analysis of linalool synthase gene (*LIS*) in terpenoid synthesis of lavender

ZHANG Minghao, WANG Aifan, GONG Lintao, SU Xiujuan

(College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University/Xinjiang Key Laboratory of Crop Biological Breeding/Lavender Research Institute, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: To investigate the function of the linalool synthase gene (*LIS*) in the regulation of terpenoid metabolism in lavender, *Agrobacterium*-mediated genetic transformation was used to modify the leaves of lavender (*Lavandula×intermedia*), generating lavender plants overexpressing the *LiLIS* gene. By analyzing the expression levels of genes involved in the terpenoid biosynthesis pathway and changes in terpenoid compound content, the functions of the *LiLIS1* and *LiLIS2* genes in lavender were verified. The results showed that, compared with wild-type (WT) lavender, overexpression of the *LiLIS1* and *LiLIS2* genes significantly increased the content of the monoterpenes linalool and lavandulol in lavender ($P<0.05$). Additionally, carotenoid content in plants overexpressing *LiLIS1* and *LiLIS2* was increased to varying degrees. However, the content of monoterpene lavandulyl acetate decreased to varying degrees. The content of camphor decreased significantly in plants overexpressing the *LiLIS2* gene ($P<0.05$). Therefore, the *LiLIS* gene plays an important role in the metabolism and biosynthesis of terpenoids in lavender. These findings can provide a theoretical basis and genetic resources for the improvement of lavender cultivars.

Key words: linalool synthase gene (*LIS*); lavender; terpenoids

收稿日期: 2025-05-06

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大科技专项(2022A03004-1); 国家自然科学基金项目(31760429)

作者简介: 张明浩(1999-), 男, 新疆乌鲁木齐人, 硕士研究生, 主要从事薰衣草分子育种研究。(E-mail) 827432607@qq.com

通讯作者: 苏秀娟, (E-mail) smm1980@yeah.net

芳樟醇是一种挥发性单萜化合物,存在于多种芳香植物的精油中,具有清甜的花香和果香气味,是香精、香水的重要成分^[1],同时芳樟醇还有抗菌^[2]、消炎^[3-4]、抗氧化^[5]等多种生物活性。唇形科植物因富含特殊香气和精油被广泛应用于洗护日化、医药等多

个领域^[6],薰衣草(*Lavandula*)是重要的唇形科香料作物,其精油成分主要由芳樟醇等多种挥发性萜类物质组成^[7],还包括薰衣草醇、乙酸芳樟酯、乙酸薰衣草酯、樟脑、1,8-桉叶素、 β -石竹烯等。植物中合成萜类物质主要为甲基赤藓醇-4-磷酸(MEP)途径和甲羟戊酸(MVA)途径,2个途径经过一系列关键酶反应后合成异戊烯基焦磷酸(IPP)和二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP),之后由IPP和DMAPP合成萜类物质的前体物质香叶基焦磷酸(GPP)、香叶基香叶基焦磷酸(GGPP)及法尼基焦磷酸(FPP),最终由萜烯合酶(TPS)催化合成不同的单萜、二萜及倍半萜等萜类物质,因此TPS基因的种类决定了合成萜类物质的丰富度^[8],Chen等^[9]将已鉴定的TPS基因分为7个亚族。芳樟醇合酶(LIS)属于萜类合酶家族的单萜合酶,可以将GPP催化合成芳樟醇。目前已从仙女扇(*Clarkia breweri*)^[10]、小苍兰(*Freesia*)^[11]、萱草(*Hemerocallis fulva*)^[12]等多种植物中克隆到LIS基因。Lewinsohn等^[13]发现过表达仙女扇LIS基因的番茄中芳樟醇的含量上升,改变了番茄的风味品质;Mendoza-Poudereux等^[14]发现过表达仙女扇LIS基因的宽叶薰衣草中芳樟醇含量显著上升,但薰衣草的表型未发生变化;张雪荣^[15]和赵钟鑫^[16]均从薰衣草中克隆到LIS基因,并分析了它们的基因结构,但并未验证它们对薰衣草萜类物质含量的影响。此外,He等^[17]发现沉默烟草*NaLIS*基因后芳樟醇含量下降,同时烟草害虫的天敌捕食率下降;肖玉涛^[18]发现沉默水稻中的*OsLIS*基因后芳樟醇含量下降,导致水稻害虫褐飞虱更多在*OsLIS*基因沉默植株中产卵,表明芳樟醇还可以参与植物对害虫的防御反应。

Guitton等^[19]认为薰衣草中存在萜类物质数量及分布差异,可以作为研究萜类物质代谢调控机制的理想模型,因此验证萜类物质合成相关基因在薰衣草中的功能,进而调控薰衣草中关键萜类物质的含量,对解析薰衣草萜类物质代谢调控机制及提升薰衣草精油品质至关重要。本课题组已根据宽叶薰衣草(*Lavandula latifolia*)和狭叶薰衣草(*Lavandula angustifolia*)的芳樟醇合酶基因序列在2个品种的杂交种——杂薰衣草中克隆到*LiLIS1*和*LiLIS2*基因,并通过体外酶活性试验初步验证了2个基因均能够将底物GPP催化合成芳樟醇^[20]。本研究基于已克隆并构建的*LiLIS1*和*LiLIS2*基因的2个过表达载体及杂薰衣草的再生体系,利用农杆菌介导法开展了杂薰

衣草的遗传转化,通过分析转基因株系中萜类物质合成相关基因表达量和萜类物质含量的变化情况,验证*LiLIS1*和*LiLIS2*基因在杂薰衣草萜类物质合成中的功能,为薰衣草品种改良提供理论基础及基因资源。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

杂薰衣草(*Lavandula × intermedia*)由新疆农业大学陆港校区薰衣草资源圃提供。过表达载体pCAMBIA3301-*LiLIS1*和pCAMBIA3301-*LiLIS2*的农杆菌菌株均为新疆农业大学薰衣草研究所保存。

1.2 薰衣草遗传转化及阳性植株的鉴定

选取幼嫩且生长良好的杂薰衣草叶片,根据克热木汗·吾斯曼等^[21]的方法消毒后在预培养基(培养基中添加2.0 mg/L 6-苄氨基嘌呤、0.4 mg/L 萘乙酸)中暗培养2 d,随后将叶片在重悬后 OD_{600} 为0.6~0.8的农杆菌菌液(添加20 mg/L乙酰丁香酮)中浸泡8~10 min,用无菌滤纸吸去叶片表面多余菌液后置于覆盖无菌滤纸的预培养基中暗培养2 d,随后将其转入筛选培养基(培养基中添加2.0 mg/L 6-苄氨基嘌呤、0.4 mg/L 萘乙酸、200 mg/L 头孢霉素、20 mg/L 卡那霉素)中,每隔21 d继代培养1次,直至获得抗性植株。

将抗性植株移至生根培养基(培养基中添加200 mg/L 头孢霉素、20 mg/L 卡那霉素)中培养,待生根后采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法提取抗性植株叶片的DNA,以pCAMBIA3301载体上特异性片段*Bar*基因的引物进行PCR鉴定,获得阳性植株,待阳性植株长至3~5 cm进行炼苗并移栽至泥炭土:蛭石:珍珠盐为7:3:1(质量比)的基质中培养。

1.3 目的基因及萜类物质合成相关基因表达量的检测

采用三异氰酸胍-酚-氯仿(Trizol)法提取阳性植株叶片的总RNA,以反转录的cDNA为模版, β -Actin为内参基因,检测目的基因*LiLIS1*和*LiLIS2*的表达量,*LiLIS1*和*LiLIS2*的荧光定量引物参照龚林涛等^[20]采用的引物,结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因表达量,用GraphPad Prism 10.1软件进行显著性分析并绘图,选取与野生型(WT)杂薰衣草相比目的基因表达量显著上升的株系进行后续试验。

选取过表达*LiLIS1*和*LiLIS2*基因株系的cDNA为模版, β -Actin基因为内参,分析过表达*LiLIS1*和*LiLIS2*基因株系对萜类物质合成相关基因表达的影

响,其中狭叶薰衣草与萜类物质合成相关基因 *LaHDR1*、*LaMCS*、*LaHMGS3*、*LaMVD1*、*LaMVD2*、*LaGGPPS4*、*LaFPPS2* 的荧光定量 PCR 引物参照康凯程^[22] 的报道,*LaGGPPS5* 基因的荧光定量 PCR 引物参照岳俊齐等^[23] 的报道,*LaBAHD63*、*LaBAHD104* 基因的荧光定量 PCR 引物参照 Zhang 等^[24] 的研究;杂薰衣草中与萜类物质合成相关基因 *LiBDH3I*、*LiBDH4* 的荧光定量 PCR 引物参照石雷等^[25] 的研究,*LiGGPPS*、*LiGPPS.SSU*、*LiFPPS*、*LiLPPS*、*LiAAT3* 基因的荧光定量 PCR 引物根据美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 公布的杂薰衣草基因序列进行设计,上述基因荧光定量 PCR 引物序列见表 1,计算出过表达植株各基因相对表达量后取对数值并绘制热图。

1.4 挥发性萜类化合物含量的测定

分别取杂薰衣草过表达 *LiLIS1* 基因株系、过表达 *LiLIS2* 基因株系及野生型 (WT) 株系的叶片各 0.05 g,送至中国科学院新疆生态与地理研究所采用固相微萃取气质联用技术 (HS-SPME-GC/MS) 对挥发性萜类化合物进行测定。

1.5 其他萜类化合物及酶活性的测定

采用植物类胡萝卜素检测试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司产品) 测定薰衣草过表达株系以及野生型株系叶片中类胡萝卜素的含量。取薰衣草过表达株系及野生型株系叶片各 0.2 g,用液氮充分研磨后按照 1:9 比例加入 0.01 mol/L 预冷的磷酸盐缓冲液 (PBS) 1.8 mL,4 °C、8 000 r/min 离心 20 min,取上清液备用。另取上述上清液,采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA),通过美桂生物科技有限公司的试剂盒分别测定脱落酸 (ABA) 含量、赤霉素 (GA) 含量以及芳樟醇合酶 (*LIS*) 活性。

2 结果与分析

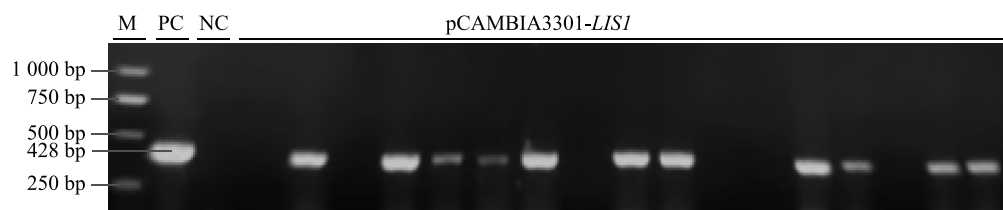
2.1 薰衣草阳性植株鉴定

薰衣草转基因植株 PCR 检测结果 (图 1、图 2) 显示,总共获得 11 株转 *LiLIS1* 基因阳性植株,4 株转 *LiLIS2* 基因阳性植株。对这些株系进行实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 的结果 (图 3) 表明,*LiLIS1* 基因在第 3、4、7、9、11 植株中的表达量显著高于野生型 (WT) ($P < 0.05$),分别为野生型的 3.40 倍、2.14 倍、2.61 倍、3.28 倍和 2.97 倍 (图 3A);*LiLIS2* 基因在第 1~3 植株中的表达量显著高于野生型 ($P < 0.05$),分别为野生型的 2.35 倍、3.88 倍和 2.88 倍 (图 3B)。

表 1 本试验所需引物序列信息

Table 1 Primer sequence information required for this experiment

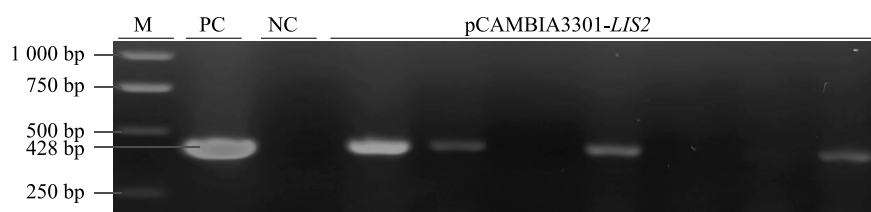
基因名称	引物序列 (5'→3')
<i>Bar</i>	F: ACCATCGTCAACCACTACATCG R: GCTGCCAGAAACCCACGTCATG
<i>β-Actin</i>	F: GGTAGCTCCACCTGAGAGGAAGT R: GCCTTTGCAATCCACATCTGT
<i>q-LiLIS1</i>	F: AATAGGCCTGCAGCTTATAACCAT R: TGGCGCGGCTTTGAAG
<i>q-LiLIS2</i>	F: AATCGGCCGACTTCCTGAAT R: TCGGAAAACAAAGTTGTGGATTG
<i>q-LaMCS</i>	F: GCATCTAAGTCCCAAGCTCG R: CCGATGGTGTGTGTTACTGTC
<i>q-LaHDR1</i>	F: TGCCGTTCTTGTAGTTGCATC R: GGGACCTTGAGAGAGTTGGT
<i>q-LaHMGS3</i>	F: GAACATCCATTACAGCCTGTCC R: GGTGAGATAGTACTCCCTGCG
<i>q-LaMVD1</i>	F: GTCACGCATTCCAGATGTACTAC R: TGGATTTGTCAAGTGGATCATGG
<i>q-LaMVD2</i>	F: CCCAGCATCAAAGGTATAAGCC R: AGAGGAAGTACTACCAAAGCGT
<i>q-LaGGPPS4</i>	F: GTCTCTACTATCTCTCCGG R: GTCTCTCATCCACGACGACT
<i>q-LaGGPPS5</i>	F: CCGATGTGGGATTGAAGACATTAG R: TCAACTTCTCCACCTGTTTCATCAT
<i>q-LaFPPS2</i>	F: CGTCGTGTGTGTGAGTTATCC R: CTGCTTTCCGAGTGGACTGATG
<i>q-LaBAHD63</i>	F: GGGACATCCTCGTCGCCCTTAT R: TTCCACTTTACTCGGATCCTTCA
<i>q-LaBAHD104</i>	F: GAGGGGGTGGTTTTTGTGGA R: GGTGAATGGAAGGGGCTGT
<i>q-LiBDH3I</i>	F: TTACTTCTCCGTGATGGGCG R: CCAATCATCGCCCTTGTTCG
<i>q-LiBDH4</i>	F: GGTAGCCCTAATAACCGGCG R: TTTCCGTAAGTGGAGACCGC
<i>q-LiGGPPS</i>	F: GGTCTTCGGCGAGGATGTCC R: CGTCCCAGTCCGACTTTGCCA
<i>q-LiGPPS.SSU</i>	F: CATCAGCTCAGCCCGTCTCC R: GGCTGAGGCAGTGGTGGTTG
<i>q-LiFPPS</i>	F: TGCTGGACTTGTTCACAGGCTG R: CGCCATGAGCAACGCACAAG
<i>q-LiLPPS</i>	F: GTCTTCGACTTTGGCTGCCA R: GAGCCAGGCTAACAAAGGCGAT
<i>q-LiAAT3</i>	F: TGCTGTAGCCAAAGGCACGA R: TGAGAGTCCCTGCCAGCCGTA



M; 2 000 bp Marker; PC; 阳性对照; NC; 阴性对照; pCAMBIA3301-*LIS1*; 转 *LiLIS1* 基因薰衣草植株。

图1 转 *LiLIS1* 基因薰衣草植株 PCR 检测结果

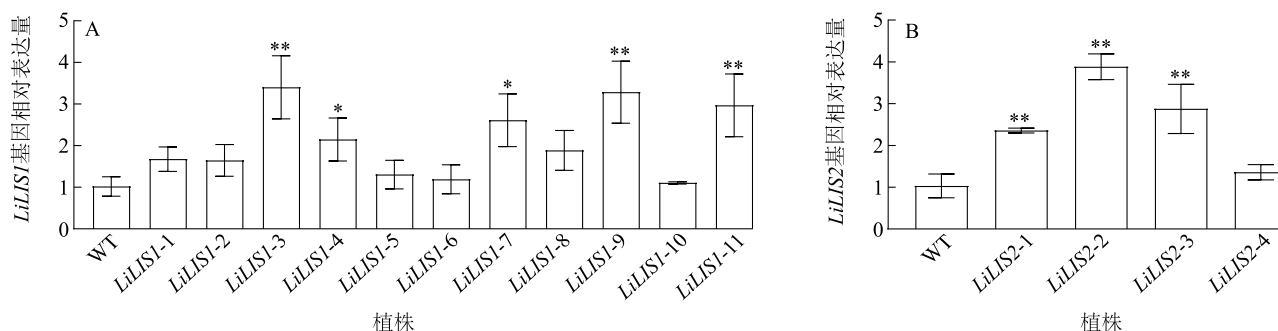
Fig.1 PCR identification of lavender overexpressing *LiLIS1* gene



M、PC、NC 见图1注; pCAMBIA3301-*LIS2*; 转 *LiLIS2* 基因薰衣草植株。

图2 转 *LiLIS2* 基因薰衣草植株 PCR 检测结果

Fig.2 PCR identification of lavender overexpressing *LiLIS2* gene



A: 过表达薰衣草中 *LiLIS1* 基因的相对表达量; B: 过表达薰衣草中 *LiLIS2* 基因的相对表达量。WT; 野生型植株; *LiLIS1*-1~*LiLIS1*-11; 过表达 *LiLIS1* 基因植株 1~11; *LiLIS2*-1~*LiLIS2*-4; 过表达 *LiLIS2* 基因植株 1~4; 图柱上 * 表示与野生型植株相比差异达到显著水平 ($P < 0.05$), 图柱上 ** 表示与野生型植株相比差异达到极显著水平 ($P < 0.01$)。

图3 过表达薰衣草中目的基因的相对表达量

Fig.3 Relative expression levels of target genes in overexpressed lavender

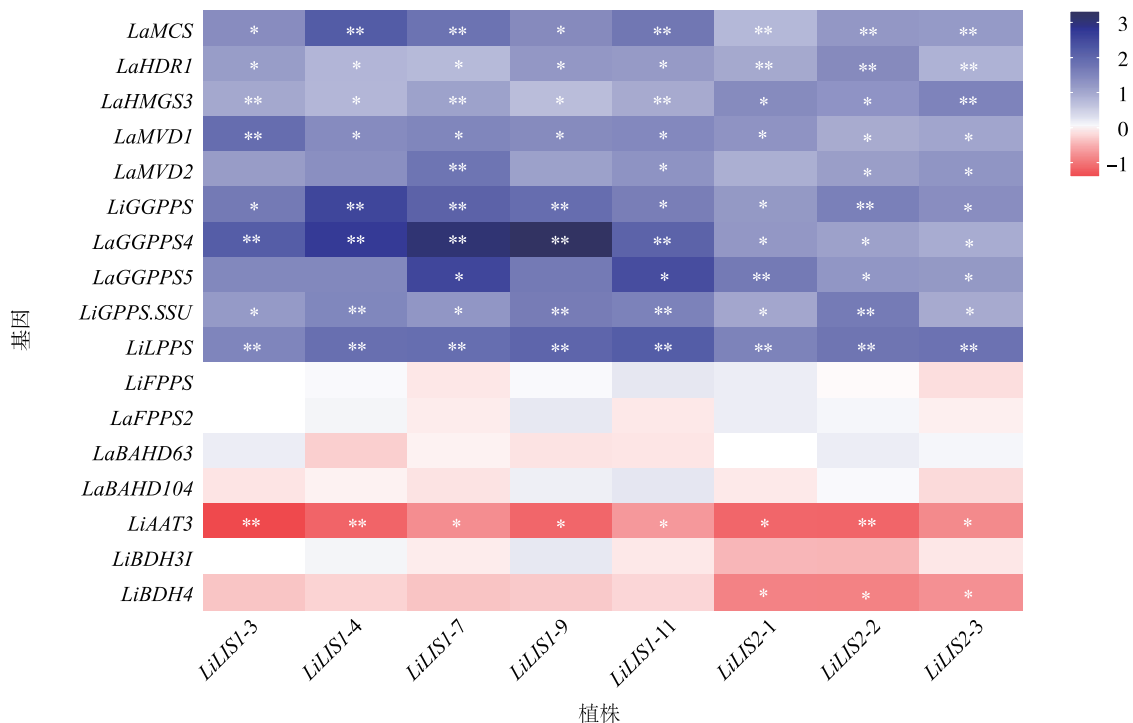
2.2 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中萜类物质合成相关基因的表达

为分析过表达 *LiLIS1*、*LiLIS2* 基因对薰衣草萜类物质合成关键途径——甲基赤藓醇-4-磷酸(MEP)途径和甲羟戊酸(MVA)途径相关基因表达量的影响, 对其表达水平进行分析, 结果(图4)发现, 过表达 *LiLIS1* 基因显著上调了杂薰衣草 MEP 和 MVA 途径中关键合成酶编码基因的表达量, MEP 途径中 *LaMCS* 和 *LaHDR1* 基因的表达量分别为对照的2.61~4.63倍、1.68~2.34倍, MVA 途径中的 *LaHMGS3*、*LaMVD1* 和 *LaMVD2* 基因表达量分别为对照的1.65~

1.97倍、2.64~3.69倍和2.14~3.38倍; 下游编码合成单萜类前体物质香叶基焦磷酸(GPP)、合成二萜及四萜前体物质香叶基香叶基焦磷酸(GGPP)相关基因的表达量均上升, 其中 *LiGPPS.SSU* 基因的表达量为对照的2.28~3.22倍, *LaGGPPS4*、*LaGGPPS5* 和 *LiGPPS* 基因的表达量分别为对照的4.21~9.91倍、2.75~6.92倍和3.05~5.87倍。此外, 在杂薰衣草中存在一条特殊的合成路径, 由二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP)和异戊烯基焦磷酸(IPP)直接合成薰衣草醇二磷酸(LPP), 再由薰衣草醇二磷酸合酶(*LPPS*)催化合成薰衣草醇^[26], 过表达 *LiLIS1* 基因

后 *LiLPPS* 基因的表达量显著上调 ($P < 0.05$), 而参与合成倍半萜前体物质法尼基焦磷酸 (FPP) 的 *LaFPPS2* 和 *LiFPPS* 基因表达量没有发生显著变化 ($P > 0.05$), 直接合成单萜类物质的相关基因中, 将薰衣草醇催化合成乙酸薰衣草酯的 *LiAAT3* 基因的表达量在过表达 *LiLIS1* 基因植株中下降, 而其他酰基转移酶基因 *LaBAHD63* 和 *LaBAHD104* 的表达量均未发生显著变化 ($P > 0.05$), 合成樟脑相关的 *LiBDH4*、*LiBDH31* 基因中只有 *LiBDH4* 基因的表达量显著降低 ($P < 0.05$)。在过表达 *LiLIS2* 基因后上述基因表达量变化与过表达 *LiLIS1* 基因基本一致, 其中 *LaMCS* 和 *LaHDR1* 基因表达量分别为对照的 1.71~2.34 倍和 1.92~2.68 倍, *LaHMGS3*、*LaMVD1* 和

LaMVD2 基因的表达量分别为对照的 2.42~2.97 倍、1.96~2.45 倍和 1.91~2.40 倍, *LiGPPS.SSU* 基因的表达量为对照的 1.95~3.19 倍, *LaGGPPS4*、*LaGGPPS5* 和 *LiGGPPS* 基因的表达量分别为对照的 2.04~2.36 倍、2.30~3.23 倍和 2.31~3.06 倍, *LiLPPS* 基因的表达量为对照的 2.91~3.51 倍, *LaFPPS2* 和 *LiFPPS* 基因的表达量未发生显著变化 ($P > 0.05$), *LiAAT3* 基因的表达量显著下降 ($P < 0.05$), *LaBAHD63* 和 *LaBAHD104* 基因的表达量也未发生显著改变 ($P > 0.05$), 而 *LiBDH31* 和 *LiBDH4* 基因的表达量均出现了下降。以上结果表明, 过表达 *LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因后对合成萜类物质途径中的部分关键基因的表达产生了不同程度的影响。



LiLIS1-3、*LiLIS1-4*、*LiLIS1-7*、*LiLIS1-9*、*LiLIS1-11*、*LiLIS2-1*、*LiLIS2-2*、*LiLIS2-3* 分别表示过表达 *LiLIS1* 基因植株 3、4、7、9、11 以及过表达 *LiLIS2* 基因植株 1、2、3。* 表示与野生型植株相比差异达到显著水平 ($P < 0.05$), ** 表示与野生型植株相比差异达到极显著水平 ($P < 0.01$)。

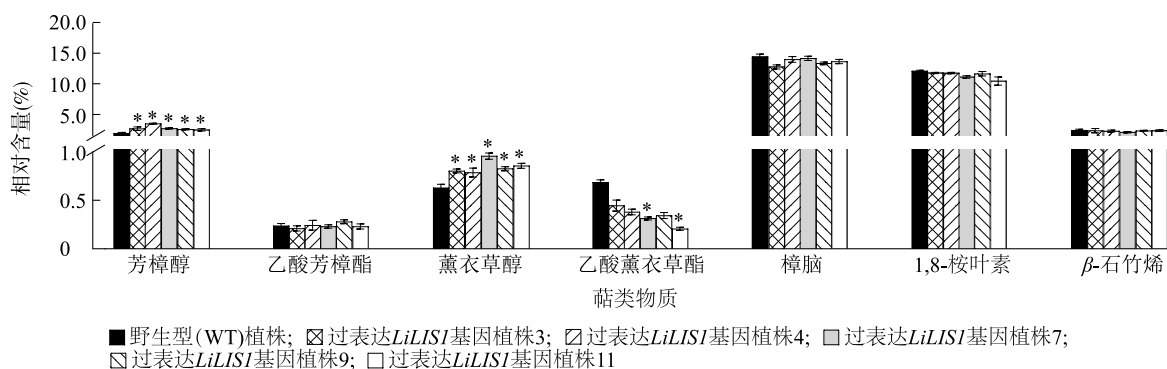
图 4 过表达 *LiLIS1*、*LiLIS2* 基因薰衣草中萜类物质合成相关基因的表达量

Fig.4 Expression levels of terpenoid biosynthesis-related genes in lavender plants overexpressing *LiLIS1* and *LiLIS2*

2.3 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中挥发性萜类物质的含量

如图 5 所示, 野生型 (WT) 杂薰衣草叶片中芳樟醇和薰衣草醇相对含量分别为 1.93% 和 0.63%, 在过表达 *LiLIS1* 基因后其相对含量分别增加至 2.48%~3.48%、0.78%~0.95%, 均显著高于野生型 ($P < 0.05$); 野生型杂薰衣草叶片中

乙酸薰衣草酯相对含量为 0.68%, 而过表达 *LiLIS1* 基因后其相对含量全部下降, 其中 *LiLIS-7*、*LiLIS-11* 植株叶片中乙酸薰衣草酯相对含量显著下降 ($P < 0.05$); 此外, 过表达 *LiLIS1* 基因杂薰衣草叶片中乙酸芳樟酯相对含量、樟脑相对含量、1,8-桉叶素相对含量、 β -石竹烯相对含量与野生型相比均无显著变化 ($P > 0.05$)。



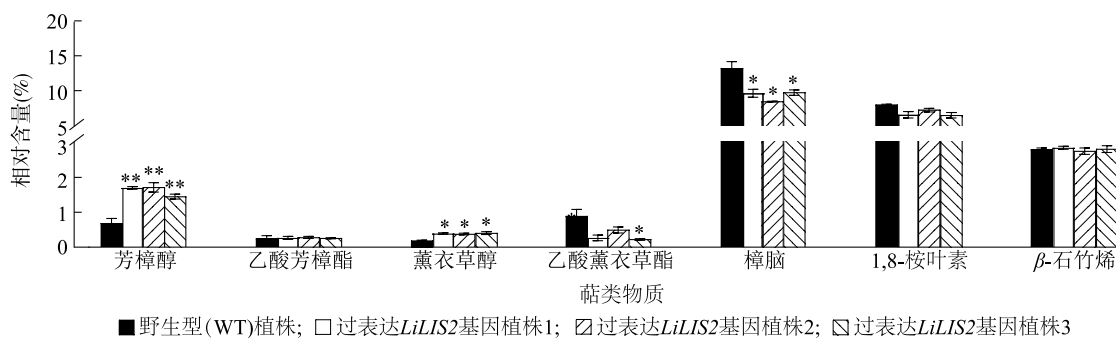
*表示与野生型(WT)相比差异达显著水平($P < 0.05$), **表示与野生型(WT)相比差异达极显著水平($P < 0.01$)。

图5 过表达 *LiLIS1* 基因薰衣草植株中挥发性萜类物质含量

Fig.5 Contents of volatile terpenoids in lavender plants overexpressing *LiLIS1* gene

如图6所示,野生型杂薰衣草叶片中芳樟醇和薰衣草醇相对含量分别为0.68%和0.18%,过表达 *LiLIS2* 基因植株中其相对含量分别增加至1.45%~1.71%、0.37%~0.40%,显著或极显著高于野生型($P < 0.05$, $P < 0.01$);野生型杂薰衣草叶片中樟脑相对含量为13.2%,而过表达 *LiLIS2* 基因植株中其相对含量降至8.44%~9.73%,显著低于野生型($P <$

0.05);过表达 *LiLIS2* 基因后乙酸薰衣草酯相对含量与野生型相比均下降,其中 *LiLIS2-3* 植株乙酸薰衣草酯相对含量显著下降($P < 0.05$);此外,过表达 *LiLIS2* 基因后乙酸芳樟酯相对含量、1,8-桉叶素相对含量、 β -石竹烯相对含量与野生型相比无显著变化($P > 0.05$)。



*表示与野生型(WT)相比差异达显著水平($P < 0.05$), **表示与野生型(WT)相比差异达极显著水平($P < 0.01$)。

图6 过表达 *LiLIS2* 基因薰衣草植株中挥发性萜类物质含量

Fig.6 Contents of volatile terpenoids in lavender plants overexpressing *LiLIS2* gene

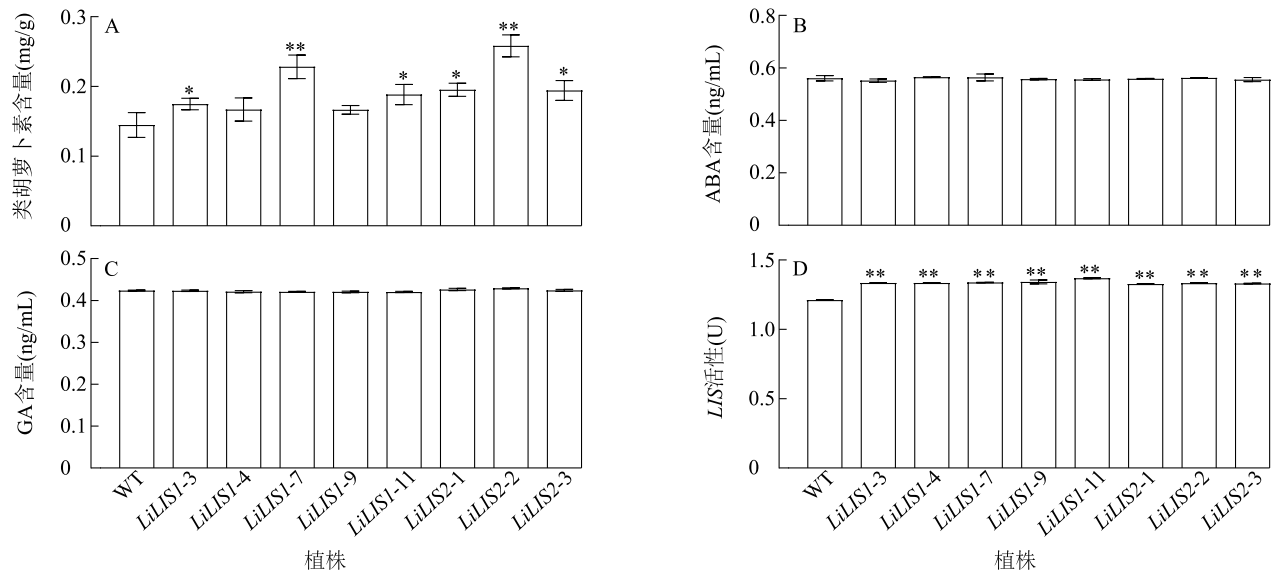
2.4 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中其他萜类物质含量及酶活性

如图7A所示,野生型杂薰衣草叶片中类胡萝卜素含量为0.14 mg/g,与野生型相比,过表达 *LiLIS1* 基因薰衣草第3、第7、第11植株叶片中类胡萝卜素含量显著或极显著提升($P < 0.05$, $P < 0.01$);过表达 *LiLIS2* 基因的薰衣草植株叶片中类胡萝卜素含量均显著或极显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。从图7B、图7C可知,过表达 *LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因薰衣草植株中与植物胁迫响应相关的脱落酸含量、与植物生长发育相关的赤霉素含量均未出现显著变化

($P > 0.05$)。芳樟醇合酶活性分析结果(图7D)显示,野生型杂薰衣草植株中芳樟醇合酶活性为1.21 U,过表达 *LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因植株中芳樟醇合酶活性与野生型相比均极显著增加($P < 0.01$)。

3 讨论

甲基赤藓醇-4-磷酸(MEP)和甲羟戊酸(MVA)通过一系列限速酶催化合成香叶基焦磷酸(GPP),再由单萜合酶合成不同的单萜化合物,因此,单萜合酶的表达调控对植物萜类物质代谢途径有重要影响。本研究中过表达 *LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因后薰衣草植株中芳樟醇



A: 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中类胡萝卜素含量; B: 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中脱落酸 (ABA) 含量; C: 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中赤霉素 (GA) 含量; D: 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中芳樟醇合酶 (*LIS*) 活性。WT、*LiLIS1-3*、*LiLIS1-4*、*LiLIS1-7*、*LiLIS1-9*、*LiLIS1-11*、*LiLIS2-1*、*LiLIS2-2*、*LiLIS2-3* 分别表示野生型植株、过表达 *LiLIS1* 基因植株 3、过表达 *LiLIS1* 基因植株 4、过表达 *LiLIS1* 基因植株 7、过表达 *LiLIS1* 基因植株 9、过表达 *LiLIS1* 基因植株 11、过表达 *LiLIS2* 基因植株 1、过表达 *LiLIS2* 基因植株 2、过表达 *LiLIS2* 基因植株 3。* 表示与野生型 (WT) 相比差异达到显著水平 ($P < 0.05$), ** 表示与野生型 (WT) 相比差异达到极显著水平 ($P < 0.01$)。

图 7 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中其他萜类物质含量及酶活性

Fig.7 Contents of other terpenoids and enzyme activity in lavender plants overexpressing the *LiLIS* gene

含量与野生型 (WT) 相比均显著提升 ($P < 0.05$), 编码 MEP 和 MVA 途径部分关键酶的基因表达量、合成单萜前体物质 GPP 的基因表达量均上升, 同时上调了 *LiLPPS* 基因表达并促进了薰衣草醇的合成。赵耘霄^[27] 研究发现, 过表达 *LcuGPPS*、*SSU1* 的山鸡椒叶片中 *LcuHMGS1*、*LcuDXS3*、*LcuDXR* 基因的表达量均显著上升 ($P < 0.05$)。Yao 等^[28] 发现过表达 *Ss-dTPS* 的拟南芥中 *AtDXS* 和 *AtGGPPS* 基因的表达量显著上升 ($P < 0.05$), 同时也提升了下游产物脱落酸的含量。Pokhilko 等^[29] 发现 MEP 途径下游物质的积累会导致拟南芥中 *DXS* 基因表达量上升。说明在薰衣草中下游单萜物质含量的上升同样可以通过反馈调节上游萜类物质途径关键酶基因表达量的上升。然而, 过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中其他单萜物质乙酸芳樟酯含量与野生型相比未发生显著变化 ($P > 0.05$), 乙酸薰衣草酯含量出现下降, 尽管它们的前体物质芳樟醇和薰衣草醇的含量显著上升 ($P < 0.05$), 但催化醇类物质合成酯类物质的酰基转移酶基因 *LaBAHD63* 和 *LaBAHD104* 的表达量未发生显著变化 ($P > 0.05$), 催化乙酸薰衣草酯合成的酰

基转移酶基因 *LiAAT3* 表达量下降, 推测 *LIS* 基因还下调了其他酰基转移酶基因的表达。过表达 *LiLIS* 基因植株中未改变乙酸芳樟酯含量, 但降低了乙酸薰衣草酯含量。过表达 *LiLIS2* 基因薰衣草植株中由 GPP 合成的樟脑含量出现了下降, 这是由于过表达 *LiLIS2* 基因后下调合成樟脑的 *LiBDH4* 基因的表达, 同为合成樟脑的 *LiBDH3* 基因也受到 *LiLIS2* 基因的影响, 说明 *LiLIS2* 基因能通过影响合成樟脑的基因表达进而降低樟脑的含量。在过表达 *LiLIS* 基因后, GPP 被更多用于合成芳樟醇, 因此底物竞争也可能是造成樟脑含量下降的原因。

MVA 途径的下游产物法尼基焦磷酸 (FPP) 是合成倍半萜和三萜的前体物质, 柯铃钰等^[30] 发现过表达 *LIS* 基因的甘草中三萜物质甘草酸含量下降, 因此推测 MVA 途径合成的异戊烯基焦磷酸 (IPP) 流向了 MEP 途径, 导致 FPP 含量及三萜物质含量下降。本研究过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中 MVA 途径合成关键酶基因的表达量均上升, 但合成 FPP 的 *LaFPPS2* 和 *LiFPPS* 基因表达量及倍半萜 β -石竹烯的含量未发生变化, 表明 MVA 途径合成的 IPP 同样流向了 MEP 途径, 但并

未改变 FPP 的含量及下游萜类物质的含量。

Mendoza-Poudereux 等^[14]发现过表达 *AtDXS* 基因的拟南芥中类胡萝卜素含量上升,但过表达 *AtDXS* 基因的薰衣草中类胡萝卜素含量未发生变化。本研究发现过表达 *LiLIS* 薰衣草植株中合成类胡萝卜素及部分植物激素(脱落酸、赤霉素)前体物质香叶基香叶基焦磷酸(GGPP)的 3 个基因表达量及叶片中类胡萝卜素的含量增加,其中过表达 *LiLIS2* 基因的植株中均达到显著水平($P < 0.05$),但过表达植株的叶色未发生变化,推测在叶片中类胡萝卜素含量与叶绿素含量的比例改变不足以改变叶色。然而,过表达 *LiLIS* 基因薰衣草植株中的 ABA 含量和 GA 含量均未发生显著变化($P > 0.05$),推测下游的萜类衍生物并未受到 *LIS* 基因的影响。GGPP 作为参与调节植物生长发育等多种生理过程的重要节点^[31],相关基因在薰衣草中的表达调控仍需要进一步研究。岳俊齐等^[23]发现 *LaGGPPS5* 基因编码产物具有 GPPS 的活性进而合成单萜物质;也有研究发现 *LiGPPS.SSU*(小亚基)可以改变 *GGPPS* 的活性使 GGPP 转向合成 GPP^[32],本研究过表达 *LiLIS* 薰衣草植株中编码 *GGPPS* 和 *LiGPPS.SSU* 的基因表达量均上调,因此,GGPP 被催化合成 GPP 也可能是芳樟醇含量上升的原因。

4 结论

本研究结果表明,*LiLIS1* 和 *LiLIS2* 基因在杂薰衣草萜类物质合成中发挥重要作用,其表达水平的上调可以促进薰衣草叶片中芳樟醇和薰衣草醇的合成,降低乙酸薰衣草酯的含量;*LiLIS2* 基因对薰衣草萜类物质合成的影响更显著。本研究为解析薰衣草萜类物质代谢调控机理及种质创新提供了研究基础。

参考文献:

[1] 陈尚妍,赵玲华,徐小军.天然芳樟醇资源及其开发利用[J].林业科技开发,2013,27(2):13-17.

[2] 胡晶鼎.桂花纯露香气成分分析及芳樟醇的抗菌活性研究[D].咸宁:湖北科技学院,2022.

[3] 李远颂,何荣荣,蔡佳欣,等.芳樟醇对莓实假单胞菌的抑菌活性及机制[J].食品科学技术学报,2022,40(4):55-63.

[4] WU Q C, YU L J, QIU J M, et al. Linalool attenuates lung inflammation induced by *Pasteurella multocida* via activating Nrf-2 signaling pathway[J]. International Immunopharmacology, 2014, 21(2):456-463.

[5] 陈耕.左旋芳樟醇的小鼠体内抗氧化及抗皮肤衰老活性研究[J].食品与机械,2021,37(2):169-172,185.

[6] 毕志成,杨国恩,张磊.唇形科植物精油的化学成分及其应用研究进展[J].福建林业科技,2013,40(3):228-232.

[7] 李慧.薰衣草萜类代谢调控分子机制及对访花昆虫影响[D].北京:北京林业大学,2019.

[8] 朱三明,郑敏敏,田恬,等.植物次生代谢途径与调控研究进展[J].植物生理学报,2023,59(12):2188-2216.

[9] CHEN F, THOLL D, BOHLMANN J, et al. The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the Kingdom[J]. The Plant Journal, 2011, 66(1):212-229.

[10] PICHERSKY E, LEWINSOHN E, CROTEAU R. Purification and characterization of S-linalool synthase, an enzyme involved in the production of floral scent in *Clarkia breweri*[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1995, 316(2):803-807.

[11] 樊荣辉,黄敏玲,钟淮钦,等.小苍兰芳樟醇合酶基因的克隆及表达分析[J].中国细胞生物学学报,2016,38(10):1185-1190.

[12] 陈宇慧,倪迪安,张世杰,等.不同香型薰衣草花萼芳樟醇释放规律及基因表达分析[J].植物生理学报,2025,61(1):71-82.

[13] LEWINSOHN E, SCHALECHET F, WILKINSON J, et al. Enhanced levels of the aroma and flavor compound S-linalool by metabolic engineering of the terpenoid pathway in tomato fruits[J]. Plant Physiology, 2001, 127(3):1256-1265.

[14] MENDOZA-POUDEREUX I, MUÑOZ-BERTOMEU J, NAVARRO A, et al. Enhanced levels of S-linalool by metabolic engineering of the terpenoid pathway in spike lavender leaves[J]. Metabolic Engineering, 2014, 23:136-144.

[15] 张雪荣.薰衣草芳樟醇合酶基因的克隆、功能鉴定及转基因技术的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2007.

[16] 赵钟鑫.阔叶薰衣草芳樟醇合酶基因的克隆与植物表达载体的构建[D].海口:海南大学,2012.

[17] HE J, FANDINO R A, HALITSCHKE R, et al. An unbiased approach elucidates variation in (S)-(+)-linalool, a context-specific mediator of a tri-trophic interaction in wild tobacco[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(29):14651-14660.

[18] 肖玉涛.水稻芳樟醇合成酶基因 *OsLIS* 及类受体蛋白激酶基因 *OsHI-LK1* 的抗虫功能解析[D].杭州:浙江大学,2011.

[19] GUITTON Y, NICOLÈ F, MOJA S, et al. Lavender inflorescence: a model to study regulation of terpenes synthesis[J]. Plant Signaling & Behavior, 2010, 5(6):749-751.

[20] 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.

[21] 克热木汗·吾斯曼,苏秀娟,张明浩,等.‘杂花’薰衣草再生体系的建立[J].分子植物育种,2023,21(24):8187-8194.

[22] 康凯程.基于转录组测序研究伊犁薰衣草精油合成的机制[D].石河子:石河子大学,2020.

[23] 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.

[24] ZHANG W Y, LI J R, DONG Y M, et al. Genome-wide identifica-

- tion and expression of *BAHD* acyltransferase gene family shed novel insights into the regulation of linalyl acetate and lavandulyl acetate in lavender[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2024, 292:154143.
- [25] 石雷,李靖锐,夏菲,等. *LiBDH* 基因、表达及在制备樟脑和鉴定薰衣草种质中的应用;CN116987679A[P]. 2023-11-03.
- [26] DEMISSIE Z A, ERLAND L E, RHEAULT M R, et al. The biosynthetic origin of irregular monoterpenes in *Lavandula*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(9):6333-6341.
- [27] 赵耘霄. 山鸡椒基因组测序及单萜合成关键基因挖掘与功能鉴定[D]. 北京:中国林业科学研究院, 2020.
- [28] YAO X Y, LI R, LIU Y N, et al. Feedback regulation of the isoprenoid pathway by *SsdTPS* overexpression has the potential to enhance plant tolerance to drought stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 2024, 176(2):14277.
- [29] POKHILKO A, BOU-TORRENT J, PULIDO P, et al. Mathematical modelling of the diurnal regulation of the MEP pathway in *Arabidopsis*[J]. *New Phytologist*, 2015, 206(3):1075-1085.
- [30] 柯铃钰,陈姿伊,丁文文,等. 过表达 *LIS* 基因对甘草毛状根中甘草酸生物合成的调控研究[J]. *药学报*, 2022, 57(12):3686-3694.
- [31] 王中,李锋,金立锋,等. 高等植物牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合成酶基因的研究进展[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(4):557-564.
- [32] ADAL A M, MAHMOUD S S. Short-chain isoprenyl diphosphate synthases of lavender (*Lavandula*)[J]. *Plant Molecular Biology*, 2020, 102(4/5):517-535.

(责任编辑:黄克玲)