北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

六倍体普通油茶*CoCHS*基因家族的全基因组鉴定及表达分析

汤欣欣 汤景颢 刘栩 程计华 程军勇 朱华国

Genome-wide identification and expression analysis of *CoCHS* gene family in *Camellia oleifera*

Tang Xinxin, Tang Jinghao, Liu Xu, Cheng Jihua, Cheng Junyong, Zhu Huaguo

引用本文:
汤欣欣, 汤景颢, 刘栩, 程计华, 程军勇, 朱华国. 六倍体普通油茶*CoCHS*基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. 北京林业大学学报, 2026, 48(7):96–109. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250297
Tang Xinxin, Tang Jinghao, Liu Xu, Cheng Jihua, Cheng Junyong, Zhu Huaguo. Genome–wide identification and expression analysis of *CoCHS* gene family in *Camellia oleifera*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(7):96–109. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250297

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250297

您可能感兴趣的其他文章
Articles you may be interested in

栾树查尔酮合酶基因克隆与表达分析
Cloning and expression analysis of chalcone synthase gene from *Koelreuteria paniculata*
北京林业大学学报, 2021, 43(3): 27–35. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200377

枸杞 *SnRK*基因家族鉴定及表达分析
Identification and expression analysis of *SnRK* gene family in *Lycium barbarum*
北京林业大学学报, 2025, 47(11): 96–108. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250274

水曲柳*FmPLT*基因家族的鉴定及表达分析
Identification and expression analysis of *FmPLT* gene family of *Fraxinus mandschurica*
北京林业大学学报, 2022, 44(2): 11–21. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210105

油茶胚珠败育的组织学特性及相关基因表达分析
Histological characteristics and related gene expression analysis of ovule abortion in *Camellia oleifera*
北京林业大学学报, 2023, 45(9): 9–20. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20220182

枣*CML*基因的分子特征及其抗寒性表达模式分析
Molecular characteristics of *CML* genes in Chinese jujube and their expression patterns in resistance to cold stress
北京林业大学学报, 2023, 45(3): 58–67. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210334

旱柳扩展蛋白基因家族与基因组分化
Expansin gene family in association with the genome differentiation of *Salix matsudana*
北京林业大学学报, 2021, 43(1): 37–48. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200216

DOI:10.12171/j.1000−1522.20250297

六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析

汤欣欣[1,2] 汤景颢[3] 刘 栩[1,2] 程计华[4] 程军勇[4] 朱华国[1,2]

（1. 黄冈师范学院生物与农业资源学院，湖北 黄冈 438000；2. 黄冈师范学院，经济林木种质改良与资源综合利用湖北省重点实验室，湖北 黄冈 438000；3. 华中农业大学生命科学技术学院，湖北 武汉 430070；4. 湖北省林业科学研究院，湖北 武汉 430075）

摘要:【目的】查尔酮合酶（CHS）是黄酮类化合物合成的关键酶，本研究旨在通过鉴定六倍体普通油茶 *CHS* 基因家族并进行表达分析和互作蛋白预测，为解析 *CHS* 调控油茶黄酮合成的分子机制提供理论依据。**【方法】**在六倍体普通油茶‘长林 40 号’基因组数据中鉴定 *CoCHS* 基因，对其基因家族进行理化性质、系统进化、基因结构、启动子顺式作用元件、共线性、组织表达等分析，并通过 AlphaFold3 预测与 CoCHS 互作的转录因子。**【结果】**（1）在六倍体普通油茶中鉴定到 45 个 *CoCHS* 基因，CoCHS 蛋白主要聚类为 CHS 亚家族和 CHS-like 亚家族两大类；CHS 亚家族均含有 PLN03173 保守结构域，CHS-like 亚家族均含有 PLN03169 保守结构域。（2）顺式作用元件分析表明油茶 *CoCHS* 基因启动子区含有大量与植物生长发育、植物激素响应及逆境胁迫响应相关的元件，推测油茶 *CoCHS* 基因家族受到植物激素的调控，且在植物的胁迫响应和生长发育过程中发挥着重要作用。（3）共线性分析表明片段重复是基因家族扩张的主要驱动力，且 *CoCHS* 基因家族的共线性均存在于同一亚家族之间。种间共线性分析表明四倍体油茶和六倍体普通油茶的共线性基因对最多。（4）转录组分析表明，*CoCHS* 基因在不同组织和不同发育时期的胚中均有表达，*CoCHS*16、*CoCHS*17、*CoCHS*18、*CoCHS*19、*CoCHS*20 和 *CoCHS*21 在种仁发育中后期表达量相对较高，推测其可能在油茶种仁黄酮的合成调控过程中扮演着重要角色。（5）对种仁中后期优势表达的 CoCHS16 蛋白构建 CoCHS16-MYB 转录因子蛋白复合物模型，筛选到 5 个潜在的 MYB 互作转录因子。**【结论】**普通油茶的 45 个 CoCHS 蛋白在进化上相对保守，其成员在黄酮合成及相关逆境响应中可能发挥不同作用。该研究为解析油茶黄酮合成的分子机制提供了核心靶点，也为通过分子育种定向改良油茶品质奠定了理论基础。

关键词：油茶；查尔酮合成酶；黄酮合成；全基因组分析；表达分析；蛋白互作预测；分子育种

中图分类号：S794.4 **文献标志码：**A **文章编号：**1000−1522(2026)07−0096−14

引文格式：汤欣欣，汤景颢，刘栩，等. 六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析［J］. 北京林业大学学报，2026，48(7)：96−109. Tang Xinxin, Tang Jinghao, Liu Xu, et al. Genome-wide identification and expression analysis of *CoCHS* gene family in *Camellia oleifera*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(7): 96−109.

Genome-wide identification and expression analysis of *CoCHS* gene family in *Camellia oleifera*

Tang Xinxin[1,2] Tang Jinghao[3] Liu Xu[1,2] Cheng Jihua[4] Cheng Junyong[4] Zhu Huaguo[1,2]

(1. College of Biology and Agricultural Resources, Huanggang Normal University, Huanggang 438000, Hubei, China;
2. Hubei Key Laboratory of Economic Forest Germplasm Improvement and Resources Comprehensive Utilization, Huanggang Normal University, Huanggang 438000, Hubei, China;
3. College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China;
4. Hubei Academy of Forestry, Wuhan 430075, Hubei, China)

收稿日期：2025−08−01 **修回日期：**2025−12−01

基金项目：湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队（T2023025），湖北省自然科学基金联合基金项目（2025AFD333）。

第一作者：汤欣欣，讲师。主要研究方向：油茶遗传改良。Email：1299243983@qq.com 地址：438000 湖北省黄冈市黄冈师范学院生物与农业资源学院。

责任作者：朱华国，教授。主要研究方向：油茶遗传改良。Email：zhuhuaguo@hgnu.edu.cn 地址：同上。

本刊网址：https://j.bjfu.edu.cn；https://journal.bjfu.edu.cn

Abstract:［**Objective**］Chalcone synthase is a key enzyme in flavonoid biosynthesis. In this study, we identified the *CHS* gene family in hexaploid *Camellia oleifera*, performed expression analysis, and predicted its interacting proteins, aiming to provide a theoretical foundation for elucidating the molecular mechanisms underlying *CHS* regulation of flavonoid biosynthesis in *C. oleifera*.［**Method**］Based on the genomic data of hexaploid *C. oleifera* ‘Changlin 40’, *CoCHS* genes were identified, and a comprehensive analysis of the gene family was performed, including physicochemical properties, phylogenetic evolution, gene structure, *cis*-acting regulatory elements in promoters, collinearity, tissue-specific expression patterns. And interacting proteins of CoCHS were predicted using AlphaFold3.［**Result**］(1) A total of 45 *CoCHS* genes were identified from the hexaploid oil-*Camellia* genome. CoCHS proteins were clustered into two major subfamilies, the CHS subfamily and CHS-like subfamily. All members of the CHS subfamily contained the PLN03173 conserved domain, while those in the CHS-like subfamily contained the PLN03169 conserved domain. (2) *Cis*-acting element analysis showed that the promoters of the *CoCHS* genes contained a large number of elements related to plant growth and development, plant hormone response, as well as adversity stress response, which suggests that the *CoCHS* gene family is likely regulated by phytohormones and plays important roles in both stress responses and developmental processes in oil-tea plants. (3) Collinearity analysis revealed that segmental duplication was the primary driver of gene family expansion, and all hexaploid *CoCHS* genes exhibited collinearity strictly within the same subfamily. Interspecific collinearity analysis showed that tetraploid *C. oleifera* and hexaploid *C. oleifera* shared the highest number of collinear gene pairs. (4) Transcriptome analysis indicated that ubiquitous expression of *CoCHS* genes in multiple tissues and seed developmental phases, while *CoCHS*16, *CoCHS*17, *CoCHS*18, *CoCHS*19, *CoCHS*20, *CoCHS*21 exhibited significantly elevated expression specifically in mid-to-late embryogenesis, implying their involvement in modulating flavonoid accumulation in oil-tea camellia seeds. (5) CoCHS16-MYB transcription factor protein complex was modeled based on the dominantly expressed CoCHS16 protein during mid-to-late seed development and identified five potential MYB-interacting transcription factors.［**Conclusion**］45 CoCHS proteins are evolutionarily conserved, and their members are likely to play distinct roles in flavonoid synthesis and associated stress responses. This study provides key targets for elucidating the molecular mechanisms of flavonoid biosynthesis and lays a theoretical foundation for molecular breeding aimed at improving oil tea quality in *C. oleifera.*

Key words: *Camellia oleifera*; chalcone synthase; flavonoid biosynthesis; genome-wide analysis; expression analysis; protein-protein interaction prediction; molecular breeding

油茶（*Camellia oleifera*）是世界四大木本食用油料植物之一，也是我国特有的木本油料树种，有 2 000 多年的栽培和利用历史。其茶油富含不饱和脂肪酸、黄酮等代谢产物，营养价值较高；同时，油茶具有不与粮争地、受益期长的特点，大力发展油茶产业对保障国家粮油安全、促进乡村振兴和林业生态建设具有重要意义[1]。黄酮类化合物作为茶油中关键的活性成分，赋予茶油优异的抗氧化、抗癌等活性，成为油茶产业向高附加值健康产品升级转型的关键因素。前期研究[2]表明，茶果种仁、种壳和果壳中黄酮类物质含量丰富，差异代谢物中最多的也是黄酮，差异代谢通路分析表明，黄酮和黄酮醇的生物合成显著性最强，由此可见，黄酮在油茶果实发育过程中发挥着重要的作用，挖掘与油茶黄酮合成相关的关键基因对油茶遗传改良及改善油茶代谢组分具有十分重要的意义。

查尔酮合酶（chalcone synthase，CHS）作为植物中重要的 III 型多聚酮合酶（polyketide synthases，PKS）家族成员，是所有黄酮类化合物合成过程中的关键酶之一，在植物生长发育过程中发挥调控花色形成、响应生物与非生物胁迫、影响种子发育及休眠等多种生物学功能[3]。*CHS* 基因家族包含多种编码查尔酮合酶的成员（CHS）及其类似蛋白（CHS-like）。CHS 主要催化肉桂酰辅酶 A 与丙二酰辅酶 A 缩合形成查尔酮，其底物特异性不同于 CHS-like 蛋白。CHS 在多个物种如马缨杜鹃（*Rhododendron delavayi*）[4]、石竹（*Dianthus chinensis*）[5]、柑橘（*Citrus reticulata*）[6]、茄子（*Solanum melongena*）[7]、蓝莓（*Vaccinium corymbosum*）[8]等均有报道，家族成员在氨基酸序列上具有高度相似性，其编码蛋白约含

400 个氨基酸。在大豆(*Glycine max*)中存在 14 个 *GmCHS* 基因，其中 *GmCHS*3 有 3 个拷贝，*GmCHS*4 有 2 个拷贝，分布于 8 条染色体上，组织表达分析显示 *GmCHS* 基因具有组织特异性[9]。在大白菜(*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)中存在 10 个 *BrCHS* 基因，分布在 7 条染色体上，在 *BrCHS* 基因启动子区包含许多激素、胁迫、植物生长调节和光响应元件，其中，*BrCHS*4 参与了大白菜中类黄酮和花青素的积累[10]。在水稻(*Oryza sativa*)中存在 31 个 CHS 成员，其中，OsCHS8 和 OsCHS24 属于 CHS 蛋白，其余成员则属于 CHS-like 蛋白，*OsCHS*24 在不同组织和发育阶段的表达水平也最高，推测它可能是水稻中最主要的 CHS 基因家族成员，进一步研究表明，OsCHS24 是水稻叶片中 UV 诱导樱花素合成的主要酶，而 OsCHS8 在此过程中发挥冗余补偿功能[11]。CHS 不仅参与植物次生代谢产物的合成，在植物生长发育和响应非生物胁迫方面也有重要作用。在小麦(*Triticum aestivum*)中发现了 87 个 *TaCHS* 基因，*TaCHS*3、*TaCHS*10 和 *TaCHS*67 在花药中特异表达，在温敏雄性不育系 BS366 中，这 3 个基因在四分体期和单核期的表达受抑制，导致孢粉素合成基因下调，影响花粉外壁形成。研究[12]发现，花药特异性 *CHS* 基因通过与孢粉素合成基因共表达，参与小麦花粉发育调控，这为解析温敏不育机制和花粉外壁建成提供了新思路。在茄子中共鉴定出 7 个 *SmCHS* 基因，该家族具有保守的基因结构和功能分化，在热胁迫下，茄子 *SmCHS*5、*SmCHS*6 和 *SmCHS*7 这 3 个基因表达下调，而 *SmCHS*4 表达上调，进化分析显示 *SmCHS* 家族具有功能分化[7]。此外，一些非生物胁迫如黑暗、低温、UV-B、盐胁迫等会导致长鳞贝母兰(*Coelogyne ovalis*)中的 CHS 表达显著上升[13]。以上研究表明，CHS 不仅是黄酮合成通路的核心酶，更是参与植物生长发育及环境调控的关键因子。

此外，转录因子通过特异性结合关键基因的特定序列，可正向或负向调控查尔酮合酶的生物合成。研究[14]表明，大豆(*Glycine max*)R2R3-MYB 家族基因 *GmMYB*77 可通过直接结合核心序列 GGT，进而抑制异黄酮合成关键基因 *GmIFS*1、*GmIFS*2、*GmCHS*7 和 *GmCHS*8 的表达，进而负调控大豆异黄酮的积累。蝴蝶兰(*Phalaenopsis amabilis*)中 R2R3-MYB 转录因子 PeMYB4L 通过结合 GGATA(MYBST1)顺式作用元件直接激活蝴蝶兰查尔酮合成酶基因 *PeCHS* 的表达，从而促进花组织中的花青素积累[15]。杜鹃(*Rhododendron* × *hybridum*)*CHS* 基因 *RhCHS* 启动子区含有多个转录因子结合位点如 bHLH、MYB、WRKY、Dof 和 ERF 等[16]。转录因子可通过结合 *CHS* 启动子序列或影响蛋白互作从而调控其合成，从而介导 *CHS* 对黄酮合成、花青素积累等响应过程。因此，预测互作的转录因子，不仅有助于从分子水平上解析植物黄酮合成以及花青素积累的转录调控机制，也将为通过基因工程手段定向改良植物营养品质(黄酮及花青素含量)提供关键的基因资源和理论依据。

虽然 *CHS* 基因已在多物种中得到了鉴定和功能解析，但油茶中仅有少量成员被初步研究。六倍体普通油茶‘长林 40 号’(*C. oleifera* ‘Changlin 40’)作为湖北省主推良种，具有产量高、适应性强、出油率高、果实品质好等突出的农艺性状，2024 年该品种基因组测序与组装的完成，为油茶重要基因的分子机制研究奠定了重要基础[17]。本研究以其基因组数据为基础，拟对 *CHS* 基因进行全基因组鉴定，并进一步对其理化性质、系统进化、基因结构、启动子顺式作用元件、共线性、不同组织的表达水平进行分析，并预测与其互作的转录因子，以期为进一步探究 *CoCHS* 基因的黄酮合成分子调控机制奠定理论基础，同时为后期通过分子设计育种实现油茶产量提升、增强抗逆性及提高茶油品质等提供重要的候选基因资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以湖北油茶主栽品种‘长林 40 号’作为试验材料，分别选取 2023 年花芽(Fb)、叶(Leaf)、茎(Stem)和 7 个不同时期(授粉后 200 d(200DAP)、授粉后 220 d(220DAP)、授粉后 240 d(240DAP)、授粉后 260 d(260DAP)、授粉后 280 d(280DAP)、授粉后 300 d(300DAP)和授粉后 320 d(320DAP))的胚，取样后液氮速冻并储存于−80 ℃ 超低温冰箱备用。所有样品采集于湖北省黄冈市黄梅县湖北省林业科学研究院油茶林基地(30°09′N，115°59′E)。

1.2 *CoCHS* 和 *CoMYB* 基因家族的全基因组鉴定和理化性质分析

从最新版本拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组注释文件(TAIR 10)中获取拟南芥 CHS 基因蛋白(AtCHS、AtPKSA、AtPKSB、At4G00040)序列，并以此作为参考，利用 TBtools 软件 BLAST 搜索二倍体南荣油茶(*C. nanyongensis*)[18]、四倍体小果油茶(*C. meiocarpa*)[19]和六倍体普通油茶‘长林 40 号’基因组[17]，参数设置为 $E < e^{-5}$；另一方面利用 Hmmer 软件(http://hmmer.org/)和隐马尔可夫模型(PF00195、PF02797)进行全基因组搜索，共初步得到 8 个二倍

体 *CHS* 候选基因、39 个四倍体 *CHS* 候选基因和 50 个六倍体 *CHS* 候选基因。使用来源于油茶转录组数据的转录本信息对 *CHS* 候选基因的编码序列进行序列校正，最终得到 45 个六倍体普通油茶 *CHS* 家族基因，命名为 *CoCHS*1 ~ *CoCHS*45；二倍体油茶 *CHS* 家族基因依次命名为 *CoNCHS*1 ~ *CoNCHS*8，四倍体油茶 *CHS* 家族基因依次命名为 *CmCHS*1 ~ *CmCHS*39。六倍体普通油茶 *MYB* 基因家族的鉴定方法同上，隐马尔可夫模型为 PF00249，最终确定 619 个 MYB 家族成员用于蛋白互作预测。通过 ExPASy 网站（https://web.expasy.org/protparam/）对六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族所有成员蛋白序列的等电点、分子量等理化性质进行预测分析。通过 WoLF PSORT（https://www.genscript.com.cn/wolf-psort.html）网站进行亚细胞定位预测。

1.3　*CoCHS* 基因家族系统进化分析

为明确六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族的进化关系与分类特征，利用 ClustalX 对拟南芥、大豆、茶树（*Camellia sinensis*）、银杏（*Ginkgo biloba*）、二倍体油茶、四倍体油茶和六倍体普通油茶 *CHS* 基因家族氨基酸序列进行多序列比对，利用 MEGA 11 软件的邻接法构建系统进化树（bootstrap 设置为 1 000），最后使用 iTOL（https://itol.embl.de/）进行进化树的可视化和美化。

1.4　*CoCHS* 基因家族基因结构和顺式作用元件分析

通过 MEME 网站（https://meme-suite.org/meme/tools/meme）进行基因基序分析（motif 检索上限为 15），利用 NCBI Batch CD-Search Tool（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi）进行保守结构域分析，最后利用 TBtools 对 *CoCHS* 基因外显子–内含子结构、结构域、基序进行可视化[20]。利用 Tbtools 提取 *CoCHS* 基因 ATG 上游 2 000 bp 序列作为启动子序列，并提交至 PlantCARE 网站（https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）进行顺式调控元件分析[21]，利用 TBtools 对顺式作用元件进行可视化。

1.5　*CoCHS* 基因家族复制事件分析及共线性分析

使用 MCscanX 筛选出重复基因对[22]，并利用 KaKs_Calculator 计算 *CHS* 重复基因对的非同义替换率（Ka）、同义替换率（Ks）和 Ka/Ks 值[23]。Ka/Ks > 1 表示基因可能受到正向选择，Ka/Ks < 1 表示基因受到纯化选择，Ka/Ks = 1 表示基因处于中性进化状态。利用 3 个不同倍性油茶的基因组序列和注释文件，通过 TBtools 软件的 One Step MCScanX 工具进行种间基因共线性分析，基于分析结果通过 TBtools 软件的 Multiple Synteny Plot 工具绘制共线性图。

1.6　*CoCHS* 基因家族表达分析

为明确六倍体普通油茶在不同组织的表达情况，基于前人研究[18]，提取六倍体普通油茶花芽（Fb）、叶（Leaf）、茎（Stem）和 7 个不同时期（200DAP、220DAP、240DAP、260DAP、280DAP、300DAP 和 320DAP）的胚等不同组织的转录组数据（TPM，每百万转录本数），取 $\log_2$（TPM + 1）值后进行标准化，利用 TBtools 软件对 *CoCHS* 基因的组织表达谱进行可视化。

1.7　荧光定量 PCR（qRT-PCR）分析

为进一步验证关键基因在胚胎发育关键时期的表达趋势，以六倍体普通油茶品种‘长林 40 号’为试验材料，分别采取上述授粉后 7 个时期的油茶茶果，剥去果皮和种壳，种仁置于液氮中速冻，采用 E.Z.N.A.® Plant RNA Kit（Omega）试剂盒提取不同发育时期油茶胚的总 RNA，采用 EasyScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix 第一链 cDNA 合成试剂盒（全式金）合成 cDNA，并基于 NCBI Primer-BLAST 在线工具设计 qRT-PCR 特异性引物，以 *CoEF*1*α* 作为内参基因（表 1）。qRT-PCR 选用 10 μL 反应体系，包括模板 3 μL。正、反引物各 0.5 μL，2 × Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 5 μL，水 1 μL。扩增程序为 94 ℃ 预变性 2 min；随后进行 40 个循环的 94 ℃ 20 s、59 ℃ 20 s 和 72 ℃ 20 s。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量，所有实验均包含 3 次生物学重复。

1.8　CoCHS 互作蛋白预测

为深入解析 *CoCHS* 基因表达调控的潜在分子机制，本研究进一步构建了 CoCHS16 与 MYB 转录因子的复合物结构模型。从六倍体普通油茶基因组数据中提取 CoCHS 和 CoMYB 的蛋白序列，使用 AlphaFold3（alphafold 3.0.1：https://alphafoldserver.com/）对潜在的互作位点进行预测，利用 PyMOL 软件对转录因子和靶基因的结合模型进行可视化。

2　结果与分析

2.1　*CoCHS* 基因家族的全基因组鉴定、亚细胞定位及基本理化性质

六倍体普通油茶基因组中鉴定出 *CoCHS* 基因家族 45 个成员（*CoCHS*1 ~ *CoCHS*45），分布在 Chr2a1、Chr2a2、Chr2b1、Chr2b2、Chr2c1、Chr2c2、Chr3a2、Chr3b1、Chr3b2、Chr3c1、Chr3c2、Chr4a1、Chr4a2、Chr4b2、Chr4c1、Chr6a1、Chr6a2、Chr6b1、Chr6b2、Chr6c1、Chr6c2、Chr8a1、Chr8a2、Chr8b2、Chr8c1、Chr8c2 染色体上，氨基酸长度在 140 ~ 398 aa 之间；分子量在 15.82 ~ 43.91 kDa 之间；等电点

表 1 qRT-PCR 引物列表

Tab. 1 qRT-PCR primers list

基因	正向引物序列(5′—3′)	反向引物序列(5′—3′)
*CoEF*1*α*	CACGATCACTGGTACCTCACAG	ACCCACCCAATGAAGGCAAG
*CoCHS*16	GTGTTGTTTATCCTAGATGA	GCTATGTAGCACCACAGTCTC
*CoCHS*17	CCAGCGCTTGTGTGTTGTTT	CAAGCTATGTAGCACCACAG
*CoCHS*18	GGCAACATGTCTAGCGCTTG	TAGCACCACAGTCTCAACGG
*CoCHS*19	GCCATTCTGGACCAAGTGGA	AAACAACACACAAGCGCTGG
*CoCHS*20	GTGAGTACGGCAACATGTCC	TATGTAGCACCACAGTCTCA
*CoCHS*21	CAACATGTCCAGCGCTTGTG	CCTGGTCCGAACCCAAAGAG

在 5.03 ~ 8.88 之间，平均等电点为 6.24，大部分为中性氨基酸；不稳定系数在 25.09 ~ 51.85 之间，平均不稳定系数为 38.27，大部分为稳定蛋白质；脂溶指数在 66.14 ~ 120.62 之间；亲水性平均数在−0.513 ~ 0.331 之间，大部分蛋白质为亲水性蛋白。亚细胞定位分析表明 29 个蛋白定位于细胞质，15 个蛋白定位于线粒体，1 个蛋白定位于细胞核中(表 2)。以上结果表明该基因家族不同成员间可能存在功能分化潜力。

2.2 CoCHS 家族蛋白的系统进化关系

六倍体普通油茶与二倍体油茶、四倍体油茶、拟南芥、大豆、茶树、银杏的 127 个 CHS 蛋白聚类为 CHS 亚家族和 CHS-like 亚家族两大类(图 1)。其中，CHS 亚家族包括 1 个 AtCHS 蛋白、3 个 CsCHS 蛋白、2 个 GmCHS 蛋白、5 个 CoNCHS 蛋白、33 个 CmCHS 蛋白和 32 个 CoCHS 蛋白，该家族中六倍体油茶 CHS 家族成员较多；CHS-like 亚家族包括 3 个拟南芥 CHS-like 蛋白、11 个 GbCHS 蛋白、15 个 GmCHS 蛋白、3 个 CoNCHS 蛋白、6 个 CmCHS 蛋白和 13 个 CoCHS 蛋白。结果表明，六倍体普通油茶的 CHS 成员相较于二倍体和四倍体，在结构和数量上存在明显差异，可能存在功能分化，在进化过程中表现出功能多样性。

2.3 *CoCHS* 基因家族的基因结构

基于亲缘关系分析其基因结构，45 个六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族成员中共检测到 15 个保守基序，同属于 CHS 亚家族的成员含有保守基序最多(13 个)，其中 CoCHS5 和 CoCHS22 含有的保守基序最少，只有 3 个(图 2a)。*CoCHS* 基因家族共含有 3 个保守结构域，分别为 PLN03169、PLN03173 superfamily 和 PLN03169 superfamily，均注释为查尔酮合酶家族蛋白，CHS 亚家族成员均含有 PLN03173 superfamily 结构域，CHS-like 亚家族成员均含有 PLN03169 保守结构域(图 2b)，说明油茶 *CHS* 基因家族具有高度保守性。此外，*CoCHS* 基因家族含有外显子数目为 1 ~ 4 个，内含子数目为 0 ~ 3 个，外显子数量相近的成员在进化上有较高的亲缘性(图 2c)。此外，*CoCHS* 基因具有多样的外显子数目，说明该基因家族在进化过程中可能经历了基因结构重排，不同成员在黄酮合成通路中可能承担着不同的生物学功能。

2.4 *CoCHS* 基因家族启动子包含的顺式作用元件

对油茶 *CoCHS* 基因启动子区 ATG 上游 2 000 bp 的序列进行顺式作用元件分析，共鉴定出植物生长发育相关元件 65 个，植物激素响应元件 259 个，生物或非生物胁迫响应元件 809 个，共计 1 133 个顺式作用元件(图 3)。其中，45 个成员均含有生物或非生物胁迫响应元件，包括厌氧诱导元件 ARE、缺氧特异性诱导元件 GC-motif、防御和压力胁迫元件 TC-rich repeats、低温胁迫响应元件 LTR、损伤胁迫响应元件 WUN-motif 和光响应元件 AE-box 等。43 个成员含有激素响应元件，包括生长素响应元件 TGA-element 和 AuxRR-core、赤霉素响应元件 GARE-motif 和 P-box、茉莉酸响应元件 CGTCA-motif 和 TGACG-motif、水杨酸响应元件 TCA-element 等。32 个成员含有生长发育相关元件，包括细胞周期调控元件 MSA-like、昼夜节律调控元件 circadian、种仁表达元件 GCN4_motif、黄酮合成调控元件 MBSI、分生组织表达元件 CAT-box、栅栏叶肉细胞分化元件 HD-Zip 1、种子特异性调控元件 RY-element 和玉米素代谢调控元件 O2-site 等。需要关注的是，*CoCHS*11、*CoCHS*12、*CoCHS*13、*CoCHS*14、*CoCHS*15、*CoCHS*41、*CoCHS*42、*CoCHS*43 和 *CoCHS*44 这 9 个基因含有黄酮合成调控元件，推测其可能在黄酮合成及油茶次生代谢积累中发挥着重要作用。以上结果表明，油茶 *CoCHS* 基因家族受植物激素的调控，且在植物的胁迫响应和生长发育过程中发挥着重要作用。

2.5 *CoCHS* 基因家族的选择压力及共线性关系

对六倍体油茶 *CoCHS* 同源基因对的非同义替

表 2　油茶 CoCHS 蛋白序列特征及理化性质

Tab. 2　Sequence characteristics and physicochemical properties of CoCHS proteins in *Camellia oleifera*

蛋白名称	染色体	氨基酸数目	相对分子质量/Da	等电点	不稳定指数	脂肪系数	平均亲水性	亚细胞定位预测
CoCHS1	8c1	389	42 759.50	6.12	36.85	93.96	−0.071	细胞质
CoCHS2	8a2	389	42 759.50	6.12	36.85	93.96	−0.071	细胞质
CoCHS3	8b2	389	42 745.48	6.12	37.07	93.70	−0.072	细胞质
CoCHS4	8c2	389	42 755.52	6.12	37.00	93.70	−0.074	细胞质
CoCHS5	8a2	159	17 563.47	8.39	50.74	91.38	−0.118	细胞质
CoCHS6	8c1	389	42 445.13	5.79	36.67	91.21	−0.036	线粒体
CoCHS7	8c2	389	42 445.13	5.79	36.67	91.21	−0.036	线粒体
CoCHS8	8a1	367	40 567.99	7.06	34.63	91.14	−0.111	细胞质
CoCHS9	8c2	223	24 082.97	7.73	25.09	102.78	0.068	细胞质
CoCHS10	8c1	367	40 474.79	7.56	34.38	90.87	−0.127	细胞质
CoCHS11	8b2	389	42 570.23	5.97	36.33	92.75	−0.088	细胞核
CoCHS12	8c2	140	15 824.32	8.30	49.04	66.14	−0.513	细胞质
CoCHS13	8c1	389	42 556.20	5.97	35.90	92.49	−0.089	细胞质
CoCHS14	8c2	232	24 753.46	5.03	27.68	105.09	0.174	细胞质
CoCHS15	8a2	389	42 556.20	5.97	35.90	92.49	−0.089	细胞质
Co-CHS16	6a2	389	42 610.25	6.11	38.01	92.49	−0.092	细胞质
CoCHS17	6b2	389	42 610.25	6.11	38.01	92.49	−0.092	细胞质
CoCHS18	6a1	389	42 610.25	6.11	38.01	92.49	−0.092	细胞质
CoCHS19	6b1	389	42 610.25	6.11	38.01	92.49	−0.092	细胞质
CoCHS20	6c1	389	42 610.25	6.11	38.01	92.49	−0.092	细胞质
CoCHS21	6c2	389	42 610.25	6.11	38.01	92.49	−0.092	细胞质
CoCHS22	8c2	160	17 494.76	6.81	39.66	120.62	0.331	细胞质
CoCHS23	3a2	342	38 005.96	5.80	39.18	91.52	−0.019	线粒体
CoCHS24	3b1	389	42 867.60	5.90	36.93	93.01	−0.002	线粒体
CoCHS25	3c2	389	42 814.55	5.78	37.43	93.01	0.016	线粒体
CoCHS26	3c1	378	41 428.10	6.27	35.11	94.95	0.033	线粒体
CoCHS27	3b2	378	41 514.99	5.47	34.52	93.65	0.049	线粒体
CoCHS28	4c2	389	42 747.68	6.22	33.89	96.74	0.048	细胞质
CoCHS29	4a1	388	42 849.63	6.01	32.91	94.72	0.067	线粒体
CoCHS30	4b2	253	27 284.81	5.97	25.83	107.83	0.283	细胞质
CoCHS31	4c1	253	27 493.97	5.79	27.04	105.49	0.259	线粒体
CoCHS32	4a1	199	21 552.03	5.94	27.63	100.35	0.188	线粒体
CoCHS33	4a2	199	21 503.94	5.70	28.48	100.35	0.177	线粒体
CoCHS34	2a1	394	43 251.87	6.12	51.39	90.61	−0.149	线粒体
CoCHS35	2c1	398	43 790.44	6.11	51.65	90.68	−0.157	细胞质
CoCHS36	2c2	398	43 911.57	5.89	51.51	90.93	−0.159	线粒体
CoCHS37	2b1	398	43 805.45	5.89	51.51	90.93	−0.156	线粒体
CoCHS38	2b2	398	43 833.50	5.89	51.29	91.41	−0.15	细胞质
CoCHS39	2a2	383	42 461.25	5.87	51.85	98.02	−0.016	线粒体
CoCHS40	2a1	343	38 059.01	8.88	33.67	92.10	−0.235	细胞质
CoCHS41	2b2	386	42 474.95	6.15	40.25	93.24	−0.183	细胞质
CoCHS42	2b1	386	42 475.94	5.98	40.25	93.24	−0.183	细胞质
CoCHS43	2c2	386	42 475.94	5.98	40.25	93.24	−0.183	细胞质
CoCHS44	2a2	386	42 521.00	5.98	40.47	92.23	−0.195	细胞质
CoCHS45	2c1	386	42 521.00	5.98	40.47	92.23	−0.195	细胞质

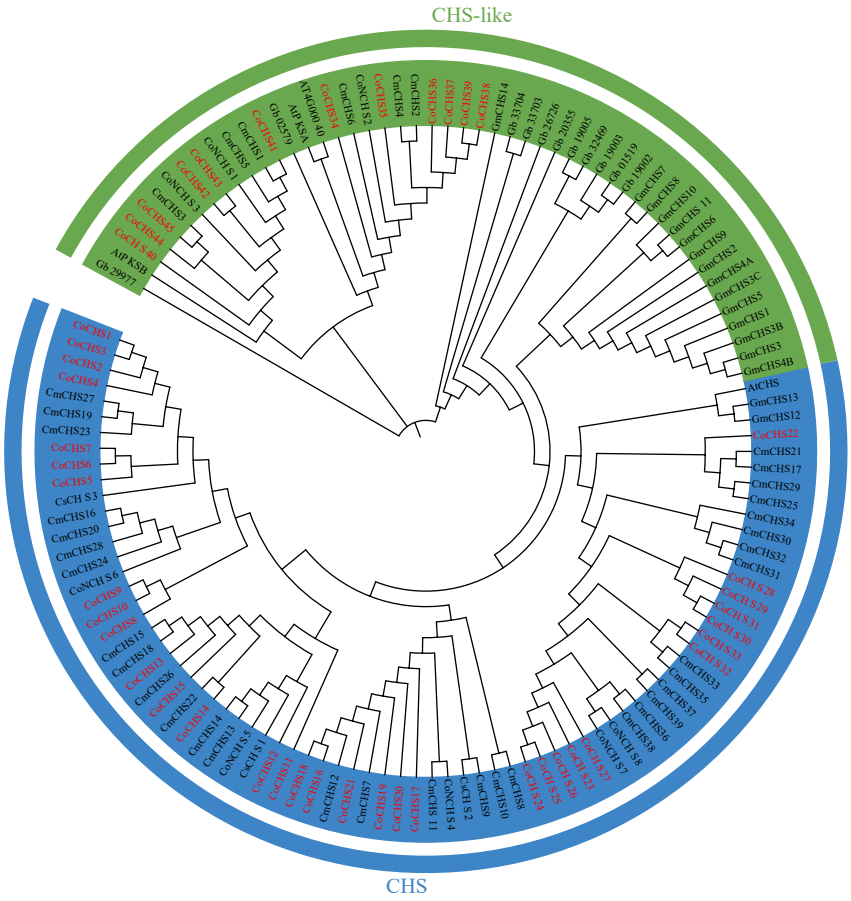


图 1 油茶及其他物种 CHS 蛋白的系统进化关系

Fig. 1 Phylogenetic relationship of CHS proteins in *C. oleifera* and other species

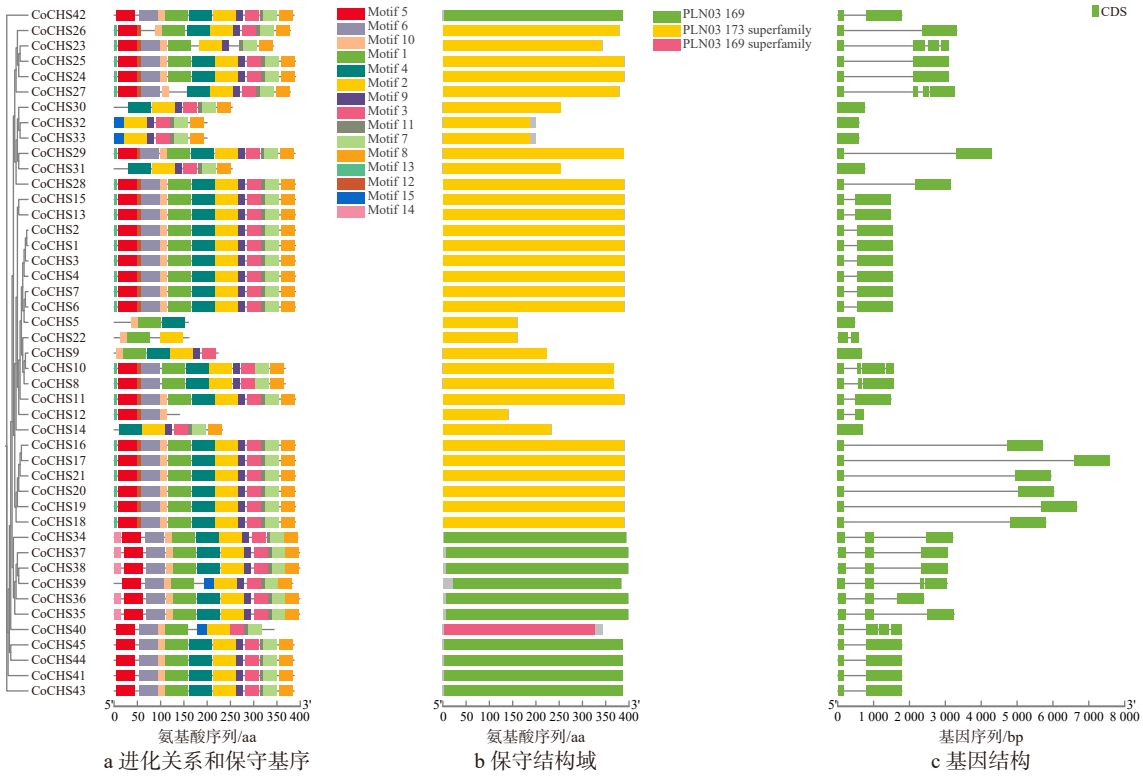


图 2 油茶 *CoCHS* 基因家族的基因结构

Fig. 2 Gene structure of *CoCHS* gene family in *C. oleifera*

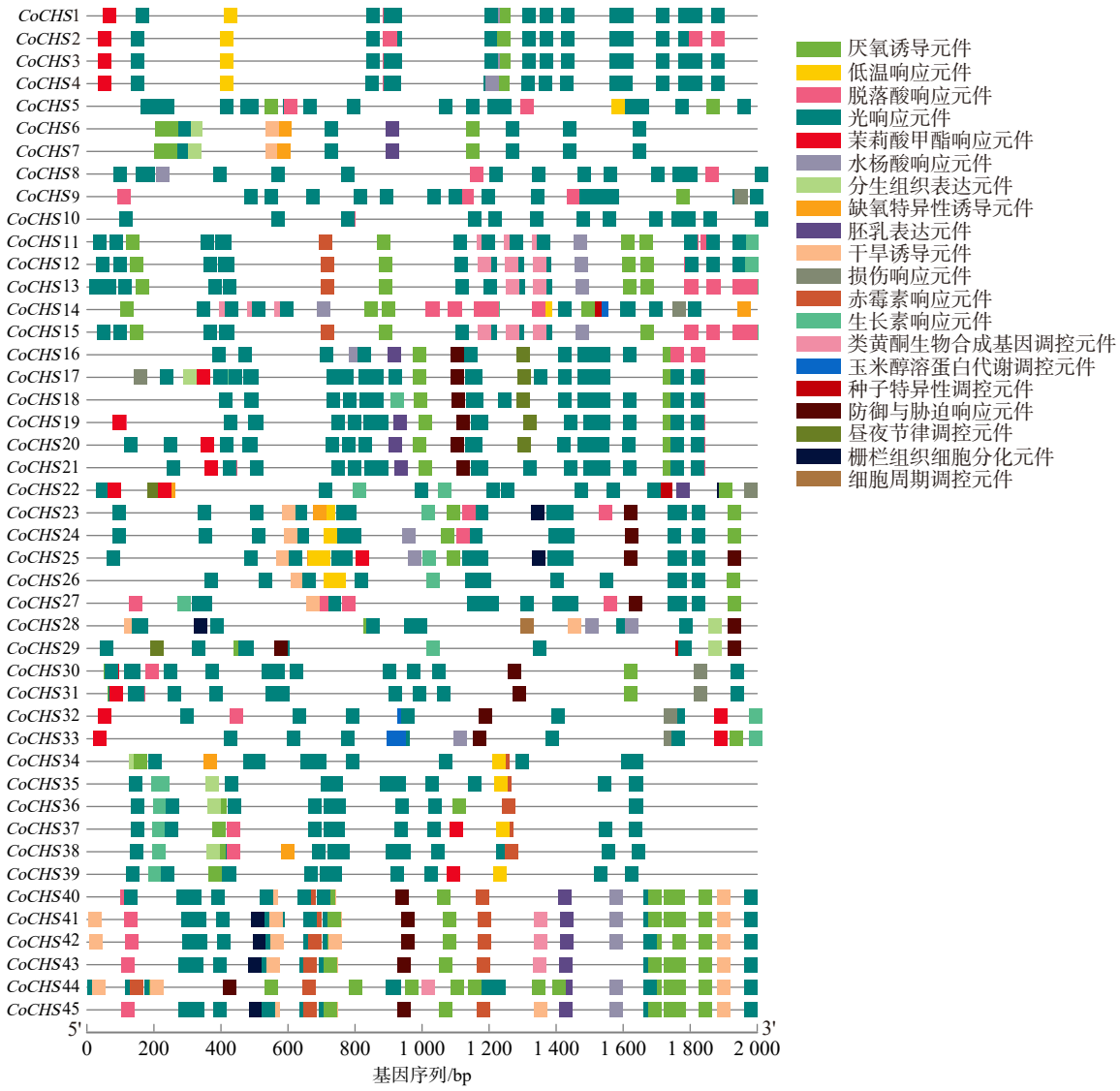


图 3　油茶 *CoCHS* 基因家族启动子包含的顺式作用元件

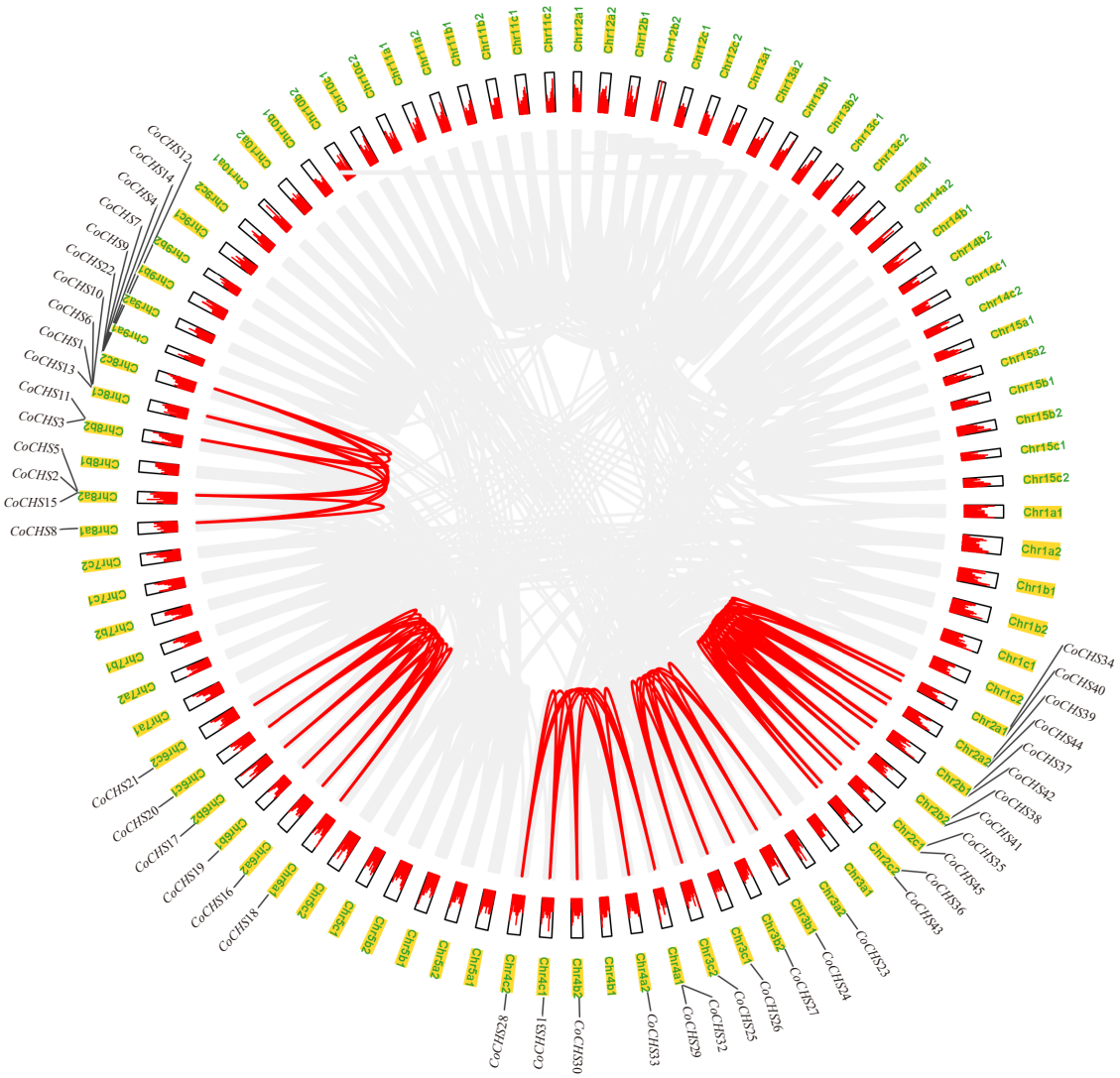
Fig. 3　*Cis*-acting elements of *CoCHS* gene family in *C. oleifera*

换率（Ka）、同义替换率（Ks）和 Ka/Ks 值进行计算，结果表明，72 个 *CoCHS* 同源基因对均为片段重复，其中有 2 个基因对 Ka/Ks 值大于 1，分别是 *CoCHS*8/*CoCHS*10 和 *CoCHS*30/*CoCHS*31，表明这 2 个基因对发生正向选择，其余 70 个基因对的 Ka/Ks 值均小于 1，说明这些基因发生了强烈的纯化选择。CHS-like 亚家族和 CHS 亚家族的 Ka/Ks 平均值分别为 0.243 7 和 0.312 6，表明 CHS-like 亚家族受到更强的选择限制。进一步使用 MCScanX 对 72 个基因对构建共线性图谱，结果（图 4）表明，它们广泛分布在 Chr2、Chr3、Chr4、Chr6 和 Chr8 等同源染色体的不同单倍型中，并呈现明显的成簇分布模式，推测片段复制是油茶 *CoCHS* 基因家族进化的主要方式。此外，有 21 个 *CoCHS* 基因均与多个基因存在共线性关系，且具有共线性关系的基因处于同一亚家族，推测 *CoCHS* 基因家族在扩张过程中，其亚家族内部保持了较高的结构和功能相似性。

为进一步研究不同倍性油茶 *CoCHS* 基因之间的进化关系，分别对二倍体油茶、四倍体油茶和六倍体普通油茶进行种间共线性分析（图 5），结果表明，二倍体油茶和四倍体油茶之间有 19 对重复基因对，二倍体油茶和六倍体普通油茶之间有 31 对重复基因对，四倍体油茶和六倍体普通油茶之间有 130 对重复基因对。种间共线性分析表明四倍体油茶和六倍体普通油茶的共线性基因对最多，说明这两者之间的亲缘关系较近，这与进化关系的结果一致，同时表明油茶 *CHS* 基因家族在多倍化事件中显著扩张。

2.6　*CoCHS* 基因家族在不同组织中的表达活性

对六倍体油茶不同组织的转录组数据分析发现，不同 *CoCHS* 基因家族成员在不同组织中存在基因差异表达（图 6）。其中，*CoCHS*1、*CoCHS*2、*CoCHS*3、*CoCHS*4、*CoCHS*5、*CoCHS*7、*CoCHS*11、*CoCHS*12、



红线表示 CoCHS 的共线性关系；灰线表示整个油茶基因组的共线性关系。第1圈表示基因密度，第2圈表示染色体。

图 4 *CoCHS* 基因家族的共线性分析

Fig. 4 Collinearity analysis of *CoCHS* gene family

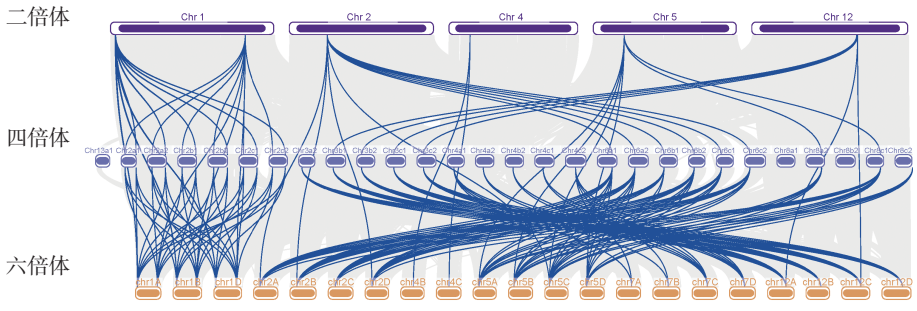


图 5 不同倍性油茶 *CHS* 基因家族的共线性分析

Fig. 5 Collinearity analysis of *CHS* gene family of *Camellia* spp. with different ploidy levels

*CoCHS*13、*CoCHS*14、*CoCHS*15、*CoCHS*16、*CoCHS*17、*CoCHS*18、*CoCHS*19、*CoCHS*20、*CoCHS*21 在种仁发育中后期表达量相对较高，且 *CoCHS*5 和 *CoCHS*7 在茎中表达量也相对较高。*CoCHS*6 在叶中表达量相对较低，但在其余组织中表达量相对较高。整体来看，大部分基因在种仁发育中后期表达量较高，表明 *CoCHS* 基因可能参与油茶种仁发育调控和种仁中的黄酮合成。

2.7 *CoCHS* 基因在胚不同发育时期的 qRT-PCR 分析

为进一步明确 *CoCHS* 基因在胚中的表达模式，根据转录组分析结果选取种仁中差异表达的 *CoCHS*16、*CoCHS*17、*CoCHS*18、*CoCHS*19、*CoCHS*20 和 *CoCHS*21 这 6 个基因进行 qRT-PCR 分析。结果

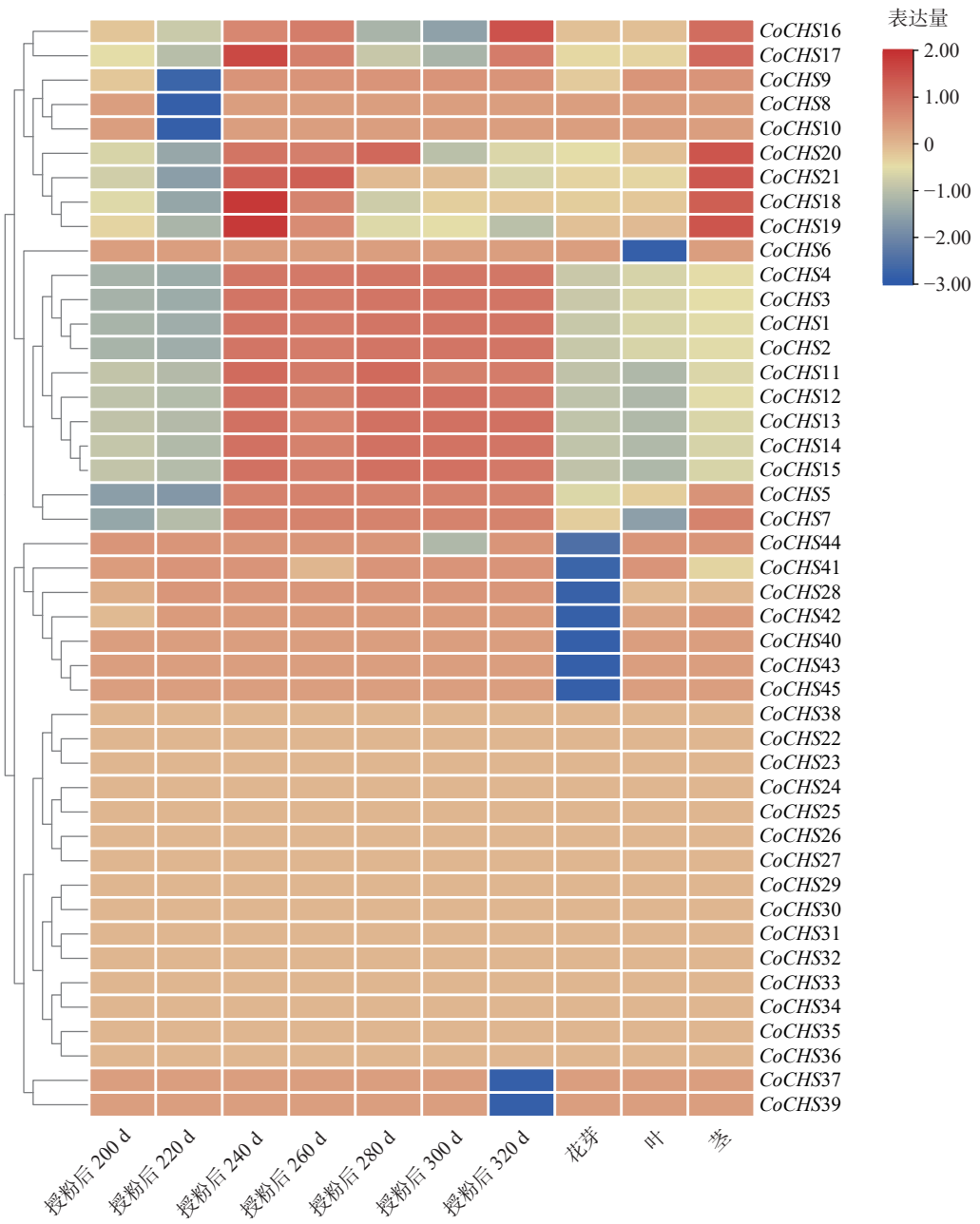


图 6　*CoCHS* 基因家族在不同组织的表达模式

Fig. 6　Expression pattern analysis of *CoCHS* gene family in *C. oleifera*

显示，随着胚的发育，*CoCHS*16 和 *CoCHS*17 的表达量呈逐渐上升趋势，在授粉后 320 d 表达量最高；*CoCHS*18 和 *CoCHS*20 的表达量在授粉后 220 d 达到峰值后逐渐下降并保持相对稳定；*CoCHS*19 的表达量呈现先上升后轻微下降并在授粉后 320 d 达到顶峰；*CoCHS*21 的表达量呈现先上升后下降趋势（图 7）。这些结果与转录组分析基本一致，进一步表明 *CoCHS* 基因在油茶种仁发育及次生代谢产物积累过程中可能发挥重要作用。

2.8　CoCHS16 互作蛋白预测

基于上述 *CoCHS* 基因家族的表达分析结果，发现 *CoCHS*16 在种仁中后期优势表达，因而选择该基因进一步分析。同时，基于序列相似性和保守结构域的综合分析，从六倍体普通油茶基因组中鉴定出 619 个 *CoMYB* 基因家族成员，为进一步分析 CoCHS16 蛋白与 MYB 的互作位点，利用 AlphaFold3 对 CoCHS16 蛋白和 CoMYB 蛋白进行高通量模型构建及互作蛋白预测分析，结果表明，有 5 个 CoMYB 蛋白的 ipTM 值大于 0.7，可信度较高，说明这 5 个蛋白最有可能与 CoCHS16 发生互作，分别为 A1.3G072700（19 个互作结合位点，图 8a）、A2.6G280500（6 个互作结合位点，图 8b）、B1.4G168700（7 个互作结合位点，图 8c）、B2.9G069500（7 个互作结合位点，图 8d）和 C2.9G061600（5 个互作结合位点，图 8e），推测这些位点在两个蛋白互作过程中至关重要。上述结果表明，CoCHS16 可能通过特异性结合 MYB

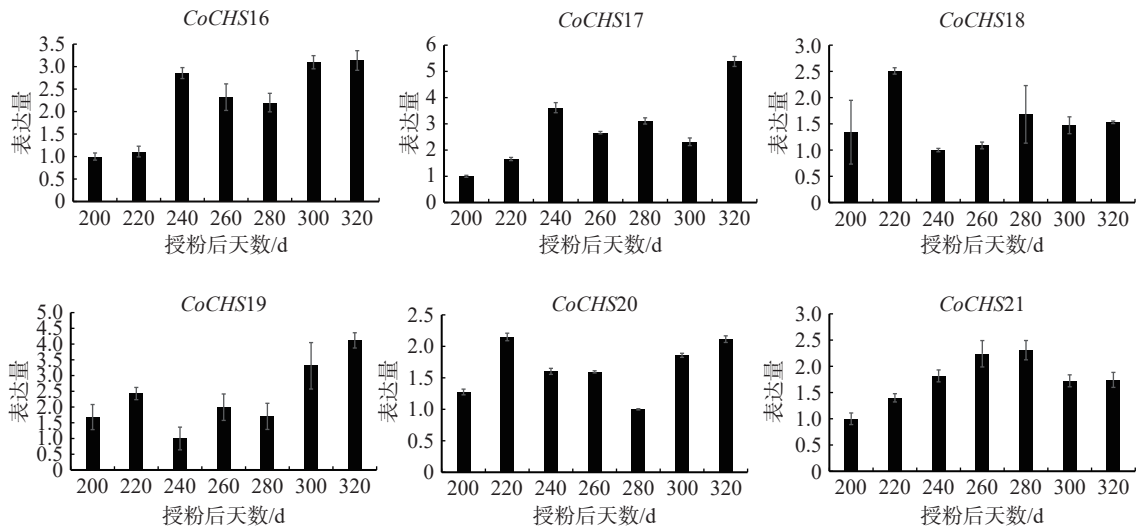


图 7 胚不同发育时期的 *CoCHS* 基因相对表达分析

Fig. 7 Relative expression analysis of *CoCHS* gene at different developmental stages of embryo

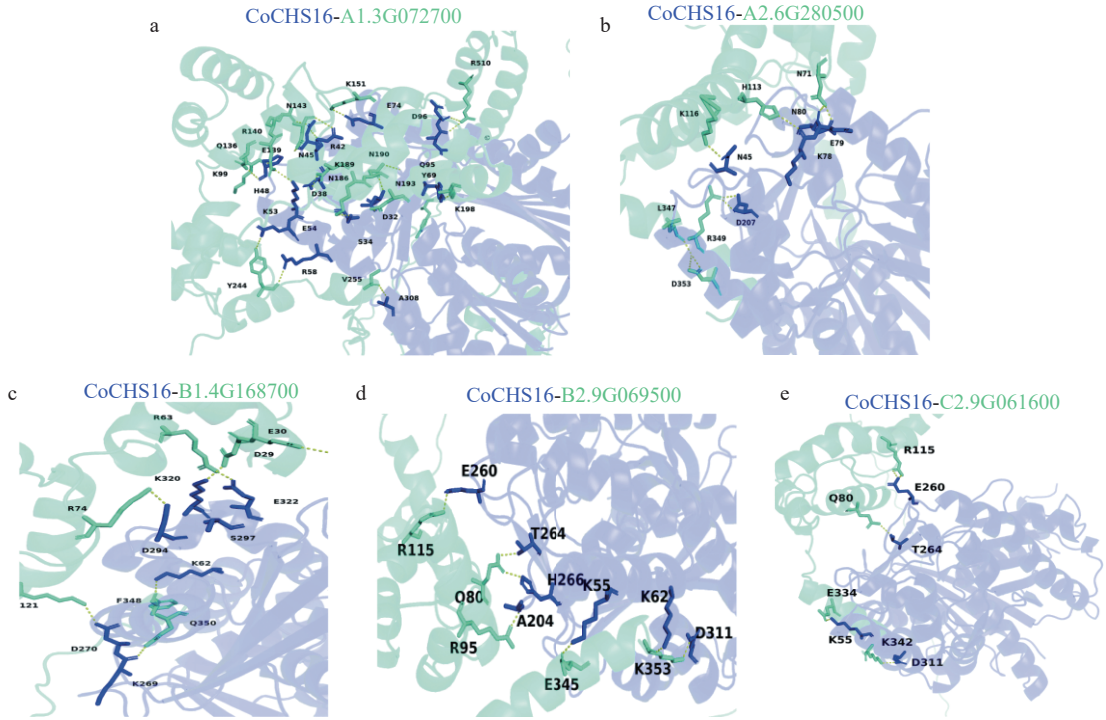


图 8 CoCHS16-MYB 复合物模型的互作位点预测

Fig. 8 Prediction of interaction sites in the CoCHS16-MYB complex model

转录因子调控油茶种仁中的黄酮类物质合成。

3 讨 论

CHS 是植物苯丙烷类代谢途径中的关键酶，在催化黄酮类物质合成、植物抗逆防御调控和植物花色形成等方面具有重要的生物学意义。目前，已在拟南芥、大豆等物种中对该基因家族开展了系统研究，揭示了其在进化适应与代谢调控中的关键机制。然而，作为我国重要的木本油料树种，油茶 *CHS* 基因家族至今尚未有全基因组层面的系统性研究。不同倍性油茶基因组序列的公布，为系统解析该基因家族提供了关键的数据支撑，基于此，本研究分别对二倍体油茶、四倍体油茶和六倍体普通油茶 *CHS* 基因家族进行鉴定，并重点对六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族进行解析，为通过分子育种改良油茶品质提供了理论依据。

本研究共鉴定出 45 个六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族成员。在系统进化分析中，CoCHS 可分为 CHS 与 CHS-like 两个亚家族，这与拟南芥 AtCHS、大白菜 BrCHS 和杜鹃花 RdCHS 的分类一致[4,10,24]，CHS 亚家族包含 PLN03173 保守结构域，CHS-like 亚家族包含 PLN03169 保守结构域，这与 Guo 等[25]

研究结果一致，说明油茶 *CoCHS* 基因家族具有高度保守性。此外，基因复制对陆生植物 III 型 *PKS* 超基因家族的扩张做出了贡献[26]。本研究中，二倍体油茶和四倍体油茶之间有 19 对重复基因对，二倍体油茶和六倍体普通油茶之间有 31 对重复基因对，四倍体油茶和六倍体普通油茶之间有 130 对重复基因对，六倍体普通油茶种内有 72 对重复基因，推测 *PKS* 基因的扩张促使六倍体普通油茶产生新的性状以适应特定生态位[25,27]。进一步分析表明，六倍体普通油茶 *CoCHS* 的复制事件均发生于亚家族内部，其中 CHS 亚家族有 44 次，CHS-like 亚家族有 28 次，而亚家族间未发生复制，进一步揭示 CHS 家族在油茶中具有较高的保守性。此外，70 个基因对的 Ka/Ks 值均小于 1，这一结果表明 *CHS* 基因在进化时间尺度上具有保守性，同时也反映了次生代谢物生物合成在植物物种中的重要性[28]。

顺式作用元件分析表明 *CoCHS* 启动子区含有大量与植物生长发育、植物激素响应和生物或非生物胁迫响应元件，尤其包含多个黄酮合成相关调控元件，暗示 *CoCHS* 基因表达受发育阶段和外界刺激共同调控。同时，*CoCHS* 基因家族成员具有较明显的组织特异性表达模式，大部分基因在种仁中后期优势表达，推测其在种仁黄酮合成及物质积累过程起调控作用。这一表达模式在其他植物中也得到印证，在柑橘中，茉莉酸可促进 *CitCHS* 基因的表达[6]；水稻 *CHS* 启动子也含有黄酮合成、干旱诱导和低氧诱导等元件[29]；大白菜 *BrCHS*2、*BrCHS*4 和 *BrCHS*8 在胚乳发育中后期高表达，参与花青素积累和胁迫响应[10]，玉米 *ZmCHS*01/02 基因在种子及叶片发育各阶段均呈现高水平的恒定表达[30]。上述研究共同表明，*CHS* 基因在胚乳或种子发育阶段的优势表达具有普遍性，并与黄酮和胚乳营养物质积累密切相关，但其具体的转录调控网络及上下游信号通路仍有待进一步解析。

人工智能工具如 AlphaFold2、AlphaFold3 等的出现，将会在植物功能研究中发挥着越来越重要的作用[31]。本研究将 AlphaFold3 应用于油茶功能基因研究，成功构建 CoCHS16-MYB 复合物模型，并预测了 5 个潜在互作蛋白的关键结合位点，为进一步深入探讨 CoCHS 蛋白的分子机制研究提供思路。在此基础上，结合已有研究可以看出，AlphaFold 系列工具正在多个生物系统中发挥关键作用，Xia 等[32]基于 AlphaFold 结构工具对植物源性果胶甲酯酶抑制蛋白 GmPMI1 进行改良，改良变体 GmPMI1R 能特异性靶向抑制病原体（非植物自身）分泌的果胶甲酯酶。Chu 等[33]通过整合 AlphaFold3 结构预测与 SPR 蛋白互作分析等技术对胚胎发育中 SMAD2/3 通路的具体分子机制进行解析，对发育生物学和肿瘤学研究产生重要影响。Zhang 等[34]基于 AlphaFold 的 AI 分子对接技术揭示了传统中药益气降脂方通过 AMPK/SIRT1-TFEB 通路改善肝脂质沉积的作用机理。以上结果表明，AI 驱动的结构设计工具将为植物分子功能研究、植物保护、发育生物学、肿瘤学等研究产生重要影响。因此，基于 AlphaFold3 对 CoCHS16 进行互作蛋白预测，不仅为油茶分子生物学研究提供了新的切入点，也为后续 *CoCHS*16 的实验验证与功能解析奠定了关键基础。

本研究系统解析了油茶 *CoCHS* 家族成员、系统进化、表达模式及重点关键基因 *CoCHS*16 的互作蛋白预测等，为研究油茶黄酮代谢调控及果实品质形成提供思路。但本研究也存在一定的局限性，仅通过 qRT-PCR 技术对 *CoCHS*16 不同发育时期的胚进行了表达分析，并未通过转基因等其他技术手段阐述该基因的具体作用机制。未来可针对该基因展开详细功能验证，结合转基因、组学分析等解析其代谢通路，为油茶分子育种提供更精准的理论支撑。

4　结　　论

本研究针对六倍体普通油茶 *CoCHS* 基因家族相关研究尚不明晰的现状，利用全基因组鉴定、系统进化分析、基因结构分析、顺式作用元件分析、共线性分析、qPCR 验证与互作蛋白预测分析等方法，对 *CoCHS* 基因家族进行系统全面研究，主要得到以下结论。

（1）从六倍体普通油茶基因组中共鉴定到 45 个 *CoCHS* 基因家族成员，聚类为 CHS 和 CHS-like 这 2 个亚家族，CHS 亚家族均含有 PLN03173 superfamily 结构域，CHS-like 亚家族均含有 PLN03169 保守结构域，均注释为查尔酮合酶家族蛋白。

（2）*CoCHS* 基因启动子区富含植物生长发育、激素响应和生物或非生物胁迫等顺式作用元件，推测该家族受植物激素的调控，且在植物的胁迫响应和生长发育过程中发挥着重要作用。共线性分析表明片段复制是油茶 *CoCHS* 基因家族扩增的主要机制。

（3）大部分 *CoCHS* 基因在种仁发育中后期优势表达，这可能是油茶种仁中黄酮物质丰富的主要原因；5 个潜在的 CoMYB 转录因子与种仁中高度表达的 CoCHS16 蛋白之间存在互作。

以上研究结果将为揭示油茶 *CoCHS* 基因调控黄酮合成等分子机制奠定理论基础，同时也为油茶分子育种及遗传改良提供了关键的候选基因资源。未来可针对 *CoCHS*16 等核心成员构建超表达和基

因编辑载体，结合转录组、代谢组、small RNA 测序等分析该基因调控黄酮代谢的分子机制，进一步完善油茶黄酮代谢调控网络。

参 考 文 献

[1] 陈永忠. 我国油茶科技进展与未来核心技术 [J]. 中南林业科技大学学报, 2023, 43(7): 1−22.
Chen Y Z. Scientific and technological progress and future core technologies of oil tea *Camellia* in China [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2023, 43(7): 1−22.

[2] 汤欣欣, 李晶怡, 毛诗雨, 等. 普通油茶茶果不同组织的代谢组分析 [J/OL]. 分子植物育种, 2025, 1−10. [2025−07−09]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240103.1352.010.
Tang X X, Li J Y, Mao S Y, et al. Metabolome analysis of different tissues of *Camellia oleifera* fruit [J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2025, 1−10. [2025−07−09]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240103.1352.010.

[3] Liu W, Feng Y, Yu S, et al. The flavonoid biosynthesis network in plants [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(23): 12824.

[4] Huang J, Zhao X, Zhang Y, et al. Chalcone-synthase-encoding RdCHS1 is involved in flavonoid biosynthesis in *Rhododendron delavayi* [J]. Molecules, 2024, 29: 1822.

[5] Liu J, Hao X, He X, et al. Characterization of three chalcone synthase-like genes in *Dianthus chinensis* [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2021, 146: 483−492.

[6] Wang Z, Yu Q, Shen W, et al. 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: 189.

[7] Wu X, Zhang S, Liu X, et al. Chalcone synthase (CHS) family members analysis from eggplant (*Solanum melongena* L.) in the flavonoid biosynthetic pathway and expression patterns in response to heat stress [J]. PLoS ONE, 2020, 15(4): e0226537.

[8] Zhang Z, Qu P, Hao S, et al. Characterization and functional analysis of chalcone synthase genes in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24: 13882.

[9] Anguraj Vadivel A K, Krysiak K, Tian G, et al. Genome-wide identification and localization of chalcone synthase family in soybean (*Glycine max* Merr) [J]. BMC Plant Biology, 2018, 18(1): 325.

[10] Xie Z, Yang L, Fan M, et al. Genome-wide identification, characterization and expression analysis of the chalcone synthase gene family in Chinese cabbage [J]. BMC Genomics, 2025, 26(1): 168.

[11] Park H L, Yoo Y, Bhoo S H, et al. Two chalcone synthase isozymes participate redundantly in UV-induced sakuranetin synthesis in rice [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(11): 3777.

[12] Liu Y, Bai J, Yuan S, et al. Characterization and expression analysis of chalcone synthase gene family members suggested their roles in the male sterility of a wheat temperature-sensitive genic male sterile (TGMS) line [J]. Gene, 2023, 888: 147740.

[13] Singh N, Kumaria S. Molecular cloning and characterization of chalcone synthase gene from *Coelogyne ovalis* Lindl. and its stress-dependent expression [J]. Gene, 2020, 762: 145104.

[14] Liu Y, Zhang S, Li J, et al. An R2R3-type MYB transcription factor, GmMYB77, negatively regulates isoflavone accumulation in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. Plant Biotechnol Journal, 2025, 23(3): 824−838.

[15] Wang R, Mao C, Ming F. PeMYB4L interacts with PeMYC4 to regulate anthocyanin biosynthesis in *Phalaenopsis* orchid [J]. Plant Science, 2022, 324: 111423.

[16] Jia Y, He F, Shen Z, et al. Molecular characterization of a chalcone synthase gene *RhCHS* from *Rhododendron* × *hybridum* Hort [J]. Gene, 2023, 857: 147176.

[17] Zhu H, Wang F, Xu Z, et al. The complex hexaploid oil-*Camellia* genome traces back its phylogenomic history and multi-omics analysis of *Camellia* oil biosynthesis [J]. Plant Biotechnology Journal, 2024, 22(10): 2890−2906.

[18] Lin P, Wang K, Wang Y, et al. The genome of oil-Camellia and population genomics analysis provide insights into seed oil domestication [J]. Genome Biology, 2022, 23(1): 14.

[19] Wang R, Li W, He Z, et al. Haplotype-resolved genome assembly of the tetraploid Youcha tree *Camellia meiocarpa* Hu [J]. Scientific Data, 2025, 12(1): 541.

[20] Chen C, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194−1202.

[21] Lescot M, Dehais P, Thijs G, et al. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. Nucleic Acids Research, 2002, 30(1): 325−327.

[22] Wang Y, Tang H, Debarry J D, et al. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49.

[23] Zhang Z. KaKs_Calculator 3.0: calculating selective pressure on coding and non-coding sequences [J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2022, 20(3): 536−540.

[24] Kim S S, Grienenberger E, Lallemand B, et al. LAP6/POLYKETIDE SYNTHASE A and LAP5/POLYKETIDE SYNTHASE B encode hydroxyalkyl alpha-pyrone synthases required for pollen development and sporopollenin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Cell, 2010, 22: 4045−4066.

[25] Guo D, Wang H, Zhang S, 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.

[26] Naake T, Maeda H A, Proost S, et al. Kingdomwide analysis of

the evolution of the plant type III polyketide synthase superfamily [J]. Plant Physiology, 2021, 185(3): 857−875.

[27] 刘阿克, 卢俊洁, 刘林涛, 等. 苦参查尔酮合酶 (CHS) 基因家族的鉴定与表达谱分析 [J]. 农业生物技术学报, 2025, 33(5): 1031−1043.
Liu A K, Lu J J, Liu L T, et al. Identification and expression profile analysis of chalcone synthase (CHS) gene family in *Sophora flavescens* [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2025, 33(5): 1031−1043.

[28] Yang L, Zhang S, Chu D, et al. Exploring the evolution of CHS gene family in plants [J]. Frontiers in Genetics, 2024, 15: 1368358.

[29] Wang J, Zhang C, Li Y. Genome-wide identification and expression profiles of 13 key structural gene families involved in the biosynthesis of rice flavonoid scaffolds [J]. Genes (Basel), 2022, 13(3): 410.

[30] Han Y, Ding T, Su B, et al. Genome-wide identification, characterization and expression analysis of the chalcone synthase family in maize [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(2): 161.

[31] 凤舞剑, 冼晓青, 张新钵, 等. 基于转录组和 AlphaFold 对稻瘟菌经典效应蛋白和水稻受体的快速鉴定 [J]. 作物学报, 2025, 51(6): 1480−1488.
Feng W J, Xian X Q, Zhang X B, et al. Rapid transcriptome and AlphaFold-based identification of classical effector proteins of *Magnaporthe oryzae* and receptors in rice [J]. Acta Agronomica Sinica, 2025, 51(6): 1480−1488.

[32] Xia Y, Sun G, Xiao J, et al. AlphaFold-guided redesign of a plant pectin methylesterase inhibitor for broad-spectrum disease resistance [J]. Molecular Plant, 2024, 17(9): 1344−1368.

[33] Chu K, Crawford A N, Krah B S, et al. Cripto-1 acts as a molecular bridge linking nodal to ALK4 via distinct structural domains [J]. Protein Science, 2025, 34(2): e70034.

[34] Zhang L, Zheng Y, Shao M, et al. AlphaFold-based AI docking reveals AMPK/SIRT1-TFEB pathway modulation by traditional Chinese medicine in metabolic-associated fatty liver disease [J]. Pharmacological Research, 2025, 212: 107617.

（责任编辑　赵田芸
责任编委　张建国）