



安飞飞, 蔡杰, 薛晶晶, 朱文丽, 陈松笔, 罗秀芹. 类黄酮合成关键基因 *MeF3H* 在木薯块根采后腐烂中的功能分析[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(01):31-39.
AN Feifei, CAI Jie, XUE Jingjing, ZHU Wenli, CHEN Songbi, LUO Xiuqin. Functional analysis of *MeF3H*, a key gene for flavonoid synthesis, in cassava postharvest deterioration[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(01):31-39.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.01.03

类黄酮合成关键基因 *MeF3H* 在木薯块根采后腐烂中的功能分析

安飞飞^{1,2} 蔡杰² 薛晶晶² 朱文丽¹ 陈松笔² 罗秀芹^{1*}

(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, 海口 571101;
2. 中国热带农业科学院 三亚研究院, 海南 三亚 572025)

摘要 为探究 *MeF3H* 在木薯块根采后生理腐烂 (PPD) 中的功能, 以‘华南9号’ (‘SC 9’) 为试验材料, 通过 qRT-PCR 技术分析 *MeF3H* 在叶片、叶柄、茎、脆性胚性愈伤组织 (FEC)、花、腋芽、纤维根、块根及块根 PPD 中的表达情况, 确定 *MeF3H* 的亚细胞定位, 结合病毒诱导的基因沉默 (virus-induced gene silencing, VIGS) 分析 *MeF3H* 沉默后块根中类黄酮含量及块根腐烂情况。结果表明, *MeF3H* 在腋芽及纤维根中高表达, *MeF3H* 定位在细胞质, *MeF3H* 基因表达及块根中类黄酮含量随着 PPD 程度加深而升高。qRT-PCR 结果显示 *MeF3H* 沉默效率在 39%~67%。*MeF3H* 沉默后, 与对照植株相比, 沉默植株叶片及块根中类黄酮含量均显著下降 ($P < 0.05$), 且 *MeF3H* 基因表达与块根中类黄酮含量呈显著正相关 ($P < 0.05$)。在采后储存第 3 天, 块根超过 50% 的面积出现腐烂, 而对照植株块根腐烂率为 36.67%。综上, *MeF3H* 表达与木薯块根中类黄酮含量及块根耐 PPD 能力存在显著正相关 ($P < 0.05$), *MeF3H* 基因沉默后导致木薯块根 PPD 显著加速。

关键词 木薯; 类黄酮; *MeF3H*; 块根; 采后腐烂

中图分类号 S533

文章编号 1007-4333(2024)01-0031-09

文献标志码 A

Functional analysis of *MeF3H*, a key gene for flavonoid synthesis, in cassava postharvest deterioration

AN Feifei^{1,2}, CAI Jie², XUE Jingjing², ZHU Wenli¹, CHEN Songbi², LUO Xiuqin^{1*}

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

Abstract In order to understand the function of *MeF3H* in postharvest physiological deterioration (PPD) of cassava tuberous roots, ‘South China No. 9’ variety (‘SC 9’) was used as the material. The expression of *MeF3H* in leaves, petioles, stems, fragility embryogenic callus (FEC), flowers, axillary buds, fibrous roots, tuberous roots and PPD process were analyzed, and the subcellular localization of *MeF3H* were determined. Virus induced gene silencing (VIGS) technology was used to silencing *MeF3H*, and the effects on flavonoid content and PPD were analyzed. The results showed that *MeF3H* was highly expressed in axillary buds and fibrous roots, and *MeF3H* was localized in the cytoplasm, the expression of *MeF3H* and content of flavonoid in tuberous roots were increased with PPD process. The results of qRT-PCR analysis

收稿日期: 2023-05-05

基金项目: 海南省自然科学基金 (320MS100); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项 (1630032022007)

作者简介: 安飞飞 (ORCID: 0000-0002-0099-4717), 副研究员, 主要从事木薯生物育种研究, E-mail: aff85110@163.com

通讯作者: 罗秀芹 (ORCID: 0000-0002-2282-2537), 副研究员, 主要从事木薯生物育种研究, E-mail: xiuqinluo@163.com

indicated that the silence efficiency of *MeF3H* was 39% to 67%. Compared with control, the flavonoid content in the leaves and tuberous roots of silenced plants were significantly decreased ($P<0.05$), and there is a significant positive correlation between *MeF3H* expression and flavonoid content ($P<0.05$). The degree of PPD was significantly deepened in silenced cassava plants, with a root degeneration rate was over 50% at 3 d after harvest, while the deterioration rate in control plant was 36.67%. In conclusion, there is a significantly positive correlation between *MeF3H* expression and flavonoid content, PPD tolerance of tuberous roots ($P<0.05$). Silencing *MeF3H* gene significantly accelerates PPD occurrence in cassava tuberous roots.

Keywords cassava; flavonoids; *MeF3H*; tuberous roots; postharvest physiological deterioration

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,影响植物观赏性、食用性以及抗逆性等^[1]。在植物遭受非生物逆境胁迫(强光、低温、干旱、机械损伤等)时,植物体内类黄酮合成相关基因被诱导表达,类黄酮尤其是花青素和原花青素在植物体内大量积累,通过清除ROS的积累,或者协同其他逆境响应因子(ABA、GA、抗氧化酶等)减缓逆境对植物的伤害进而提高植物的逆境适应性^[2]。以MYB-bHLH-WD40转录因子复合体为核心的类黄酮调控途径是深入研究并被广泛报道的调节方式^[3]。类黄酮类化合物在非生物胁迫中的功能研究对解析木薯采后生理腐烂形成与调控的机理有重要意义。

木薯(*Manihot esculenta* Crantz)是世界亚热带和热带地区主要的粮食作物,在我国“一带一路”建设中发挥积极作用^[4]。木薯通常在收获后的1~3 d就开始发生变质,称之为“采后生理腐烂”(Postharvest physiological deterioration, PPD)^[5]。据统计,每年亚洲、拉丁美洲及非洲因木薯PPD所造成的经济损失分别可达8%、10%和29%^[6]。木薯PPD是由块根收获时的机械损伤引起的一系列生理生化反应,属于植物非生物逆境胁迫的一种。机械损伤可导致类黄酮化合物积累^[7],其中柚皮苷和山奈酚可在应激反应中作为抗氧化剂抑制SOD活性^[8],通过清除过量ROS进而提高植物对胁迫的耐受能力。目前,类黄酮化合物在木薯PPD调控中的功能研究甚少,已有研究仅证实表儿茶素可以作为PPD的标记代谢物^[9],但具体的作用机制尚未明晰。An等^[10]通过转录组、代谢组、干扰等技术发现类黄酮代谢通路中28个基因及51种代谢物在PPD过程中高度富集,包括查尔酮合成酶(MeCHS)、花青素合成酶(MeANS)等基因和木犀草素、山奈酚、根皮素等代谢产物,证实类黄酮化合物积累可有效延缓块根

PPD发生,因此,推测块根类黄酮代谢物积累抑制了机械伤害带来的ROS爆发,进而延缓块根PPD发生。黄烷酮3-羟化酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H)是植物类黄酮代谢途径上的一个关键酶,可以催化柚皮素发生反应生成二氢黄酮醇,二氢黄酮醇是黄酮醇和花青素合成的共同前体物质^[11]。*F3H*基因作为花青素合成途径和黄酮醇合成途径中的关键基因,在许多植物中都被克隆,如拟南芥^[12]、玉米^[13]、大豆^[14]等。近年来的研究主要集中于*F3H*基因在花色、果色形成中的调控作用^[15-16],以及非生物逆境胁迫对花色素苷合成的影响^[17-18],但目前其在木薯PPD中的功能及生理机制尚未见报道。本研究以食用木薯‘华南9号’(‘SC 9’)栽培种为研究对象,分析*MeF3H*在不同组织的表达及亚细胞定位,利用病毒介导的基因沉默(virus induced gene silencing, VIGS)技术沉默*MeF3H*,通过植株块根PPD表型观察、qRT-PCR分析及类黄酮含量测定,旨在探究*MeF3H*在木薯块根PPD发生过程中的生物学功能,以期延缓木薯块根储藏期间采后生理腐烂提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

木薯材料为食用木薯品种‘SC 9’,来自于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。‘SC 9’于2022年3月种植于国家木薯种质资源圃(海南儋州,19°30′33.13″N, 109°30′19.34″E),植后10个月的木薯块根用于PPD观察。将木薯‘SC 9’成熟茎秆分成约25 cm的茎段,扦插于装满基质(沙土:营养土:蛭石=4:1:1)的花盆中置于温室中培养,萌发后生长40 d的盆栽苗用作VIGS试验材料,检测正确的VIGS植株移至国家木薯种质资源圃种植,植后3个月块根用于

PPD 观察。用于亚细胞定位的野生型烟草‘本生烟’由本实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 木薯 *MeF3H* 在不同组织和 PPD 中的表达
采用植物总 RNA 提取试剂盒 (DP441, 天根生化科技 (北京) 有限公司) 提取 ‘SC 9’ 叶片、叶柄、茎、脆性胚性愈伤组织 (FEC)、花、腋芽、纤维根及块根与采后贮藏 0、1、3 和 5 d 的块根总 RNA, cDNA 第一链的合成参照赛默飞世尔

科技 (中国) 有限公司的 Thermo Scientific RevertAid RT 试剂盒 (K1691) 说明书进行。设计 *MeF3H* 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 *MeF3H* 的相对表达情况。参照 Wilson 等^[19] 的木薯品种 ‘TME204’ 的基因表达图谱 (http://shiny.danforthcenter.org/cassava_atlas/) 查找 *MeF3H* (Manes. 02G104700) 在不同组织的表达情况。

表 1 载体构建、定量及测序引物
Table 1 Primers designed for vector construction, qRT-PCR and sequencing

名称 Name	正向引物 (5'→3') Forward primer (5'→3')	反向引物 (5'→3') Reverse primer (5'→3')
qPCR-MeF3H	GGTTATCCATAGCCACATTC	TTACTCCTTCTTCAATCTTCAG
qPCR-Actin	TGATGAGTCTGGTCCATCCA	CCTCCTACGACCCAATCTCA
SubN-MeF3H	agtggctctgtccagtcct ATGGCTCCTTCCACACTTAC	ggtctcagcagaccacaagt TCAAGCAAAGATATCCTCTA
SubN-sequencing	CATGGTCCTGCTGGAGTTCGTG	ACCGGCAACAGGATTCAATC
VIGS-MeF3H	agtggctctgtccagtcct ATGGCTCCTTCCACACTTAC	ggtctcagcagaccacaagt CTTCTCCTCCGGCGGCAAGG
VIGS-sequencing	TGGGCGCTAATTAGTTTACTGCA	GGTCAAGACGGCTCAACTCTTCA

注:小写字母代表接头序列。
Note: Lowercase letters represent joint sequences.

1.2.2 木薯 *MeF3H* 亚细胞定位

设计 *MeF3H* 的全长扩增引物 (表 1), 以 ‘SC 9’ 叶片 cDNA 为模板, 扩增 *MeF3H* 片段, 经回收后, 采用 Nimble Cloning 试剂盒 (NC001, 海南你行生物科技有限公司) 将片段与 pNC-Green-SubN 空载体连接, 具体操作过程参照 Yan 等^[20]。测序验证正确后的载体即为亚细胞定位所需的重组载体, 测序引物见表 1。瞬时转化烟草, 3 d 后使用激光共聚焦显微镜观察 *MeF3H* 的定位情况, 具体操作过程参照 An 等^[21] 的方法。

1.2.3 木薯 *MeF3H* 沉默片段的获得、载体构建和沉默效率检测

利用 SGN VIGS 在线工具 (<https://vigs.solgenomics.net/>)^[22] 选择木薯 *MeF3H* 基因 (Manes. 02G104700) 沉默的靶基因区域, 沉默序列片段长为 300 bp, 根据靶基因序列设计引物 (表 1)。以 ‘SC 9’

叶片 cDNA 为模板, 扩增 *MeF3H* 沉默片段, 经回收后, 采用 Nimble Cloning 试剂盒将沉默片段与 pCsCMV-NC 空载体进行连接, 具体操作过程参照 Tuo 等^[23] 的方法。测序验证正确后的载体即为 VIGS 所需的重组沉默载体 pCsCMV-*MeF3H*, 测序引物见表 1。

将空载体 pCsCMV-NC 与沉默载体 pCsCMV-*MeF3H* 通过热激法转入农杆菌 GV3101 (psoup-19) 感受态细胞, PCR 鉴定呈阳性的克隆菌液即为本试验所需的农杆菌单克隆。空载体 pCsCMV-NC 与 pCsCMV-*MeF3H* 重组载体农杆菌在带有抗性的 LB 培养基中培养至 OD₆₀₀ 0.8~1.0, 经离心、重悬后注射 ‘SC 9’ 木薯叶片背面, 每个载体注射 5 株, 具体操作参照 An 等^[10] 方法。在侵染后的第 24 天, 提取叶片 RNA, 运用 qRT-PCR 技术检测各植株中 *MeF3H* 的表达情况, 以木薯 *Actin* 基因作为内参, 使

用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量,得到各沉默株系中*MeF3H*基因的沉默效率。

1.2.4 类黄酮含量测定

木薯叶片及块根中类黄酮的提取,采用北京索莱宝科技有限公司(Solarbio)植物类黄酮含量检测试剂盒(BC1335)方法,按照样本质量计算各样品的类黄酮含量。

1.2.5 木薯沉默株系块根PPD鉴定

将检测正确的盆栽植株移植大田种植,3个月后收获其块根,将完整薯块储存于培养箱(26℃,16 h/8 h)0、1、3、5 d后观察PPD情况,方法参照Rahmawati等^[24],略有改进,选取块根3个相对位置(1/4、1/2和3/4处)计算各位置变色百分比,最终获得5个样本的平均采后腐烂率。

1.2.6 数据统计分析

数据分析采用Excel 2013和DPS v7.05统计软件,差异显著性标准采用新复极差法(Duncan),相

关性分析采用Pearson相关分析。

2 结果与分析

2.1 木薯*MeF3H*在不同组织及PPD中的表达分析及亚细胞定位

由图1可知,*MeF3H*基因主要在木薯腋芽和纤维根中优势表达,其中*MeF3H*基因在腋芽中的相对表达量为叶片的5.79倍,而在叶柄中的相对表达量仅为木薯叶片的0.31倍。瞬时表达结果表明35S::*GFP-MeF3H*融合蛋白主要集中在细胞质中(图1(b)),*MeF3H*为细胞质定位的蛋白质。

随着木薯块根贮存时间的延长,PPD程度的加深,*MeF3H*的表达逐步增强。采后1、3和5 d的*MeF3H*相对表达量分别是0 d(CK)的3.87、7.45和10.18倍(图2(a))。同时类黄酮含量也随着PPD程度加深而显著升高(图2(b)),经过相关性分析发现,PPD过程中*MeF3H*基因表达量与类黄酮含量

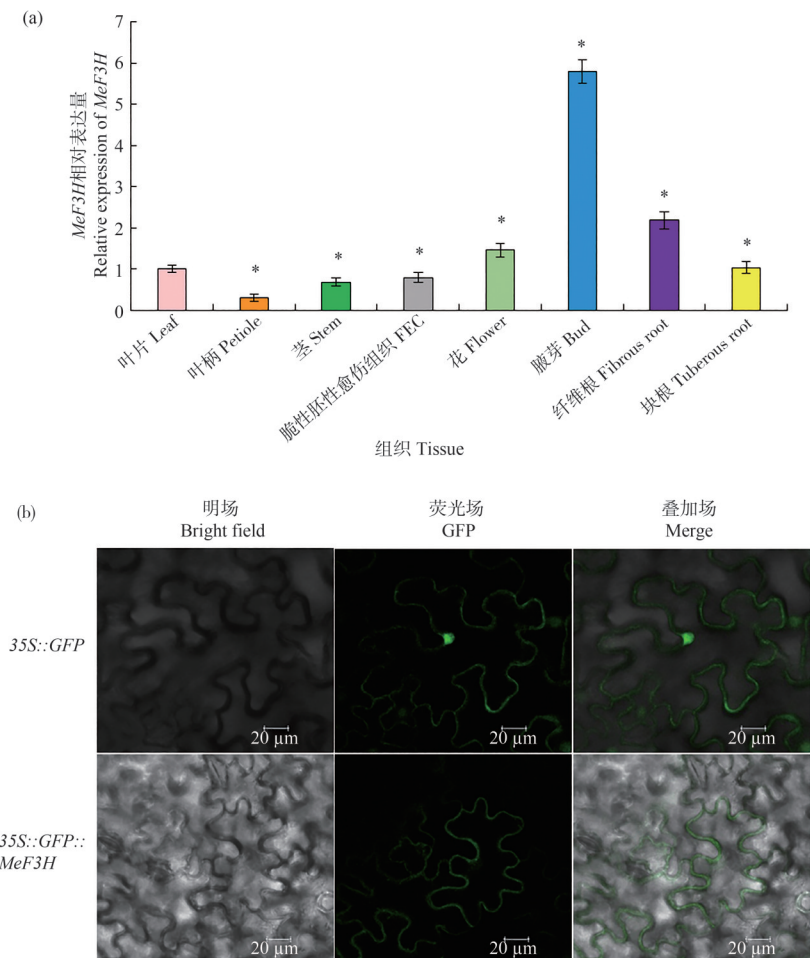


图1 *MeF3H*在‘SC 9’不同组织中的表达(a)与亚细胞定位(b)

Fig. 1 Expression of *MeF3H* in different tissues of ‘SC 9’ (a) and subcellular localization (b) of *MeF3H*

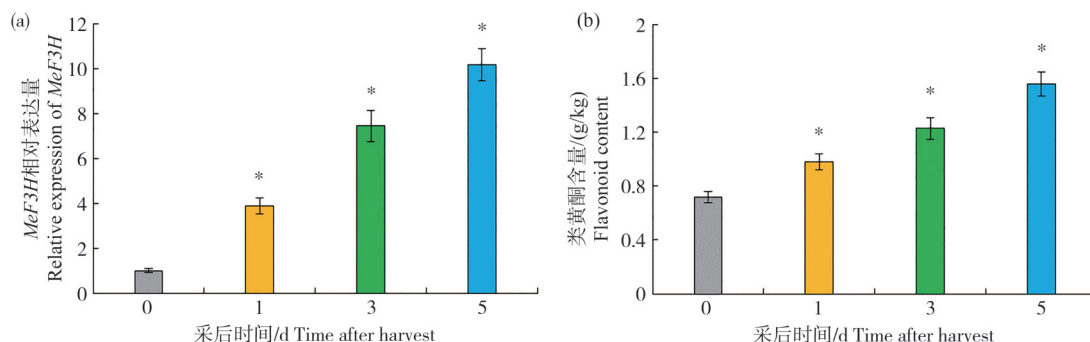


图 2 ‘SC 9’块根 PPD 过程中 *MeF3H* 的表达 (a) 与类黄酮含量变化 (b)

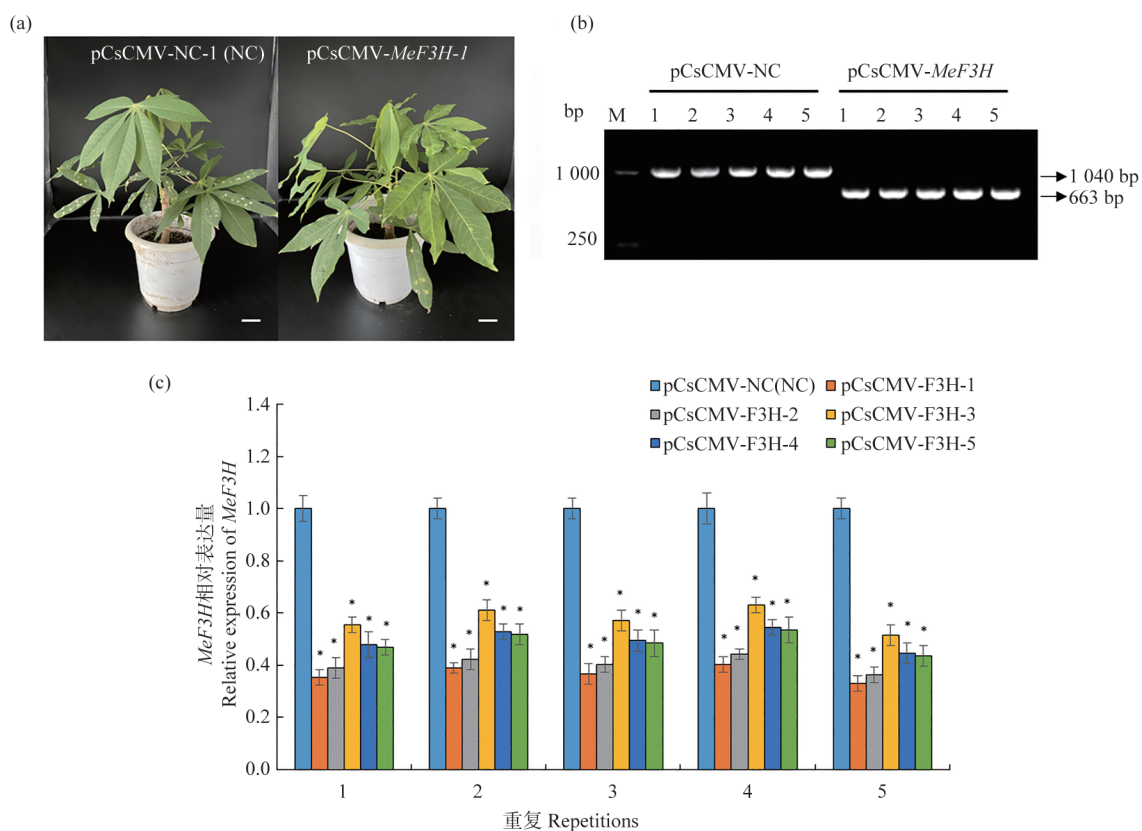
Fig. 2 Expression of *MeF3H* (a) and changes of flavonoid content (b) of ‘SC 9’ during PPD

呈显著正相关 ($R^2=0.910$)。

2.2 木薯 *MeF3H* 沉默植株的获得及 *MeF3H* 在沉默植株的表达分析

由图 3(a)可知, *MeF3H* 沉默植株的新叶与对照组差异显著。对照组 (pCsCMV-NC, NC) 在

1 040 bp 处有目的条带, 转化成功的沉默植株在 663 bp 处有目的条带 (图 3(b))。分别与 5 株对照组 (pCsCMV-NC) 叶片中 *MeF3H* 的表达量相比, 试验组 5 株沉默植株 *MeF3H* 的表达量均显著下调, 沉默效果最好的重复 1 中 *MeF3H* 的相对表达量仅为 NC



标尺: 1 cm. *表示在 0.05 水平上差异显著性。

Bar=1 cm. * shows significantly difference at the 0.05 probability level.

图 3 木薯 *MeF3H* 沉默植株的表型 (a)、PCR 鉴定 (b) 及 *MeF3H* 表达分析 (c)

Fig. 3 Phenotype (a), PCR identification of *MeF3H* silenced plants (b) and the expression analysis of *MeF3H* (c)

的0.33倍,重复3中*MeF3H*的相对表达量为NC的0.61倍,为沉默效率最低的重复,沉默效率达到39.0%(图3(c)),表明pCsCMV-*MeF3H*可以高效沉默木薯*MeF3H*基因的表达。

2.3 木薯*MeF3H*沉默植株中类黄酮含量分析

由表2可知,*MeF3H*沉默后的木薯叶片和块根中类黄酮含量均显著下降,与转pCsCMV-NC的植株(NC)相比,沉默的木薯叶片中类黄酮含量平均下降31.94%,沉默的木薯块根中类黄酮含量下降26.92%。*MeF3H*沉默植株中*MeF3H*基因相对表达与类黄酮含量的相关性分析表明两者存在显著正相关性($R^2=0.933$)。

2.4 木薯*MeF3H*沉默植株PPD观察

由图4(a)可知,*MeF3H*基因沉默效率最好的植株长势明显较弱,株高、地上部分生物量及单株鲜薯重分别为1.84 m、1.36 kg和0.85 kg,均显著低于转pCsCMV-NC(NC)植株2.08 m、1.78 kg和1.15 kg。与植株NC相比,*MeF3H*基因沉默植株块

表2 *MeF3H*沉默植株叶片及块根类黄酮含量
Table 2 Flavonoids content in the leaves and tuberous roots of *MeF3H*-silenced plants g/kg

样品 Sample	部位 Part	
	叶片 Leaf	块根 Root
pCsCMV-NC(NC)	12.71±0.42 a	0.78±0.12 a
pCsCMV- <i>MeF3H</i>	8.65±0.27 b	0.57±0.10 b

注:同一列内不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。
下同。
Note: Values followed by small alphabets in the same column are significantly difference at the 0.05 probability level. The same below.

根PPD程度显著加重,在贮藏后第1天就出现明显的黑色斑点,在第3天超过50%的块根出现腐烂,第5天后出现微生物感染,进入次级腐烂阶段(图5和表3)。对不同储存时间处理的木薯块根采后腐烂率的观察发现沉默*MeF3H*基因后,块根PPD的发生提前,PPD程度加重。

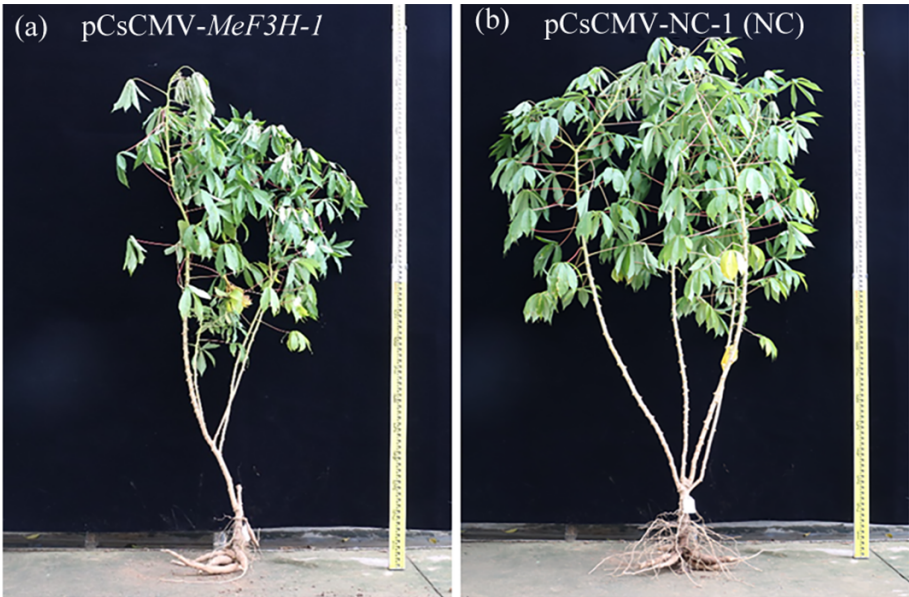


图4 木薯*MeF3H*沉默植株(a)及对照植株(b)

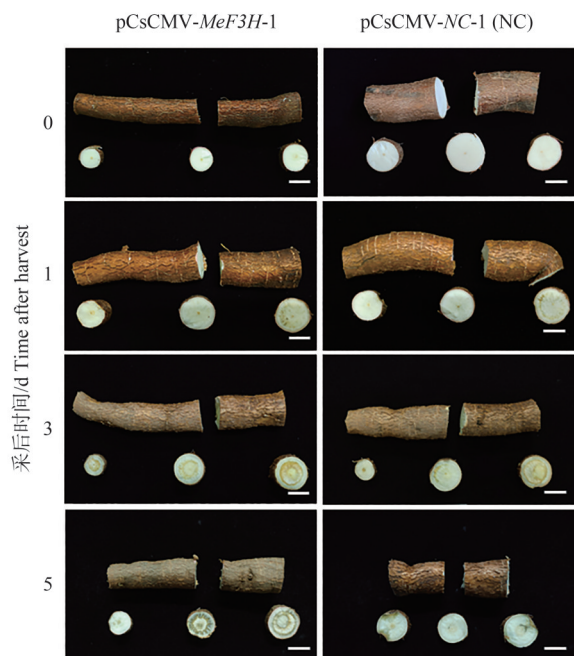
Fig. 4 *MeF3H* silenced plant (a) and control plant (b)

3 讨论

3.1 *MeF3H*基因表达特性

已有研究表明*F3H*基因的表达具有明显的时空和组织特异性^[25-26],本研究发现*MeF3H*基因在不同木薯组织的表达量差异显著(图1(a)),*MeF3H*

在木薯腋芽及纤维根中高表达,在叶片和块根中表达量相当,而在叶柄中相对较少,这与‘TME 204’的基因表达图谱中该基因的表达情况大致相同。同时本研究发现,*MeF3H*基因可能参与木薯块根的发育过程,特别是在块根发育的初期即纤维根阶段,*MeF3H*基因的表达较高,而在块根发育后期表



标尺:1 cm。Bar=1 cm.

图 5 木薯 *MeF3H* 沉默植株及对照植株 (NC) 块根 PPD 观察

Fig. 5 PPD observation of *MeF3H* silenced plants and control plants (NC)

达显著下降,推测其可能在木薯块根发育过程中起到负调控作用。*MeF3H* 基因表达具有明显组织特异性,与在中间锦鸡儿^[26]、长叶红砂^[27]、藤茶^[30]等物种中的研究结果一致,与数据库中‘TME204’的 *MeF3H* 基因表达结果大致相同。

3.2 *MeF3H* 基因对木薯类黄酮代谢的影响

类黄酮又称黄酮类化合物,是植物中重要的多酚类次生代谢产物。不仅能调控花、果的颜色,而且在保护植物免受生物及非生物逆境胁迫方面也发挥着重要作用^[27]。类黄酮代谢始于苯丙氨酸,

F3H 是一种关键的结构基因,作用于类黄酮生物合成途径的分叉处,导致产生不同的类黄酮,如黄酮、黄酮醇、花青素和原花青素^[28]。*F3H* 基因的过表达可以显著增加黄酮类化合物的生物合成^[29-30],而阻断拟南芥 *F3H* 作用将降低其黄酮醇含量^[31]。本研究发现沉默木薯 *MeF3H* 基因后,叶片及块根中类黄酮含量显著下降,这与上述研究结果一致。抑制或过表达 *F3H* 基因,可直接导致植物类黄酮代谢合成下调或上调^[29,31],在木薯中亦如此^[10]。同时对 PPD 过程以及沉默植株中 *MeF3H* 基因表达与类黄酮含量进行相关性分析发现两者存在显著正相关,后续可对木薯 *MeF3H* 基因进行克隆,并借助基因工程手段进一步了解其功能,为提高木薯块根黄酮类化合物含量奠定基础。

3.3 *MeF3H* 基因对木薯块根 PPD 的影响

非生物逆境胁迫可诱导 *F3H* 基因的表达,在干旱、高盐、低温胁迫下, *F3H* 基因的表达均有上升^[17,32-33]。木薯块根 PPD 是由收获时的机械伤害引起的腐烂变质,属非生物逆境胁迫的一种。An 等^[10]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 *MeF3H* 基因,这与本研究中‘SC 9’块根储存不同时期 *MeF3H* 的表达一致(图 2 (a)),且沉默 *MeF3H* 基因后,块根变质率显著升高(图 5,表 3),表明 *MeF3H* 表达量与木薯块根耐 PPD 能力呈显著正相关。推测木薯块根在受到机械伤害后, *MeF3H* 可通过上调表达进而增加木薯块根中类黄酮含量,通过清除 ROS,延缓木薯块根 PPD 的发生。*MeF3H* 沉默株系的长势明显较弱,薯块偏小,植株整体发育受到抑制, *MeF3H* 通过抑制木薯的发育进而影响 PPD 仍有待进一步解析。

表 3 *MeF3H* 沉默植株块根采后腐烂率

Table 3 Percentages of root discoloration in *MeF3H*-silenced plants

%

块根样品 Root Sample	采后时间/d Time after harvest			
	0	1	3	5
pCsCMV-NC(NC)	0	6.17±1.05 b	36.67±8.82 b	29.33±8.65 b
pCsCMV-MeF3H	0	11.00±1.92 a	53.33±12.74 a	68.67±15.97 a

4 结 论

MeF3H 在木薯腋芽及纤维根中高表达, *MeF3H* 定位在细胞质, *MeF3H* 基因表达量及块根中类黄酮含量随着块根贮藏时间的延长而逐渐升

高。*MeF3H* 沉默后,叶片及块根中类黄酮含量均显著下降,木薯块根 PPD 程度显著加深,在采后储存第 3 天块根超过 50% 的面积出现腐烂。*MeF3H* 基因表达量与木薯块根耐 PPD 能力呈显著正相关,因此可通过过表达 *MeF3H* 基因来提高木薯块根对

PPD的耐受。

参考文献 Reference

- [1] 司诚,杨世鹏,孙祝,张广楠,钟启文. 基于转录组和代谢组解析香瓜茄果实类黄酮代谢差异[J]. 华北农学报, 2023, 38(1): 53-62
Si C, Yang S P, Sun Z, Zhang G N, Zhong Q W. Analysis of favonoid metabolism in different cultivated pepino fruits based on transcriptome and metabolome [J]. *Acta Agriculturae Boreali Sinica*, 2023, 38(1): 53-62
- [2] 申玉晓. 玫瑰 MYB 转录因子调控类黄酮介导的逆境响应机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019
Shen Y X. MYB transcription factors regulate flavonoid-mediated stress response in *Rose Rugosa* [D]. Wuhan: Huanzhong Agricultural University, 2019
- [3] Jiang L, Yue M, Liu Y, Zhang N, Lin Y, Zhang Y, Wang Y, Li M, Luo Y, Zhang Y, Wang X, Chen Q, Tang H. A novel R2R3-MYB transcription factor FaMYB5 positively regulates anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in cultivated strawberries (*Fragaria × ananassa*) [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(6): 1140-1158
- [4] 曹升, 陈江枫, 黄富宇, 严华兵, 韦朝念, 李富山, 陆柳英, 覃夏燕, 陈会鲜, 李恒锐. 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, Lu L Y, Qin X Y, Chen H X, Li H R. Development status and countermeasures of cassava industry in Guangxi [J]. *Guangxi Agricultural Sciences*, 2021, 52(6): 1468-1476
- [5] 安飞飞, 薛晶晶, 韦卓文, 陈松笔. α -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 α -mannosidase and postharvest physiological deterioration of cassava tuberous roots [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(2): 165-169
- [6] Djabou A S M, Carvalho L J C B, Li Q X, Niemenak N, Chen S. Cassava postharvest physiological deterioration: a complex phenomenon involving calcium signaling, reactive oxygen species and programmed cell death [J/OL]. *Acta Physiologiae Plantarum*, (2017-03-03). DOI: doi.org/10.1007/s11738-01702382-0
- [7] Lin N, Liu X, Zhu W, Cheng X, Wang X, Wan 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
- [8] 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
- [9] 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
- [10] An F, Cui M, Chen T, Cheng C, Liu Z, Luo X, Xue J, Tang Y, Cai J, Chen S. Flavonoid accumulation modulates the responses of cassava tuberous roots to postharvest physiological deterioration [J/OL]. *Postharvest Biology and Technology*, (2023-01-08). DOI: doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112254
- [11] 段玥彤, 王鹏年, 张春宝, 林春晶. 植物黄酮-3-羟化酶基因研究进展 [J]. 生物技术通报, 2022, 38(6): 27-33
Duan Y T, Wang P N, Zhang C B, Lin C J. Research progress in plant flavanone-3-hydroxylase gene [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2022, 38(6): 27-33
- [12] Pelletier M K, Shirley B W. Analysis of flavanone 3-hydroxylase in *Arabidopsis* seedlings coordinate regulation with chalcone synthase and chalcone isomerase [J]. *Plant Physiology*, 1996, 111(1): 339-345
- [13] Deboo G B, Albertsen M C, Taylor L P. Flavanone 3-hydroxylase transcripts and flavonol accumulation are temporally coordinate in maize anthers [J]. *Plant Journal*, 1995, 7(5): 703-713
- [14] Zabala G, Vodkin L O. The wp mutation of Glycine max carries a gene-fragment-rich transposon of the CACTA superfamily [J]. *Plant Cell*, 2005, 17(10): 2619-2632
- [15] 冯志熙, 刘应丽, 朱佳鹏, 罗超, 黄武略, 李新艺, 蔡斌, 黄海泉, 黄美娟. 滇水金凤黄酮 3-羟化酶基因(IuF3H)的克隆及表达分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(1): 65-71
Feng Z X, Liu Y L, Zhu J P, Luo C, Huang W L, Li X Y, Cai B, Huang H Q, Huang M J. Cloning and expression analysis of *IuF3H* genes in *Impatiens uliginosa* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(1): 65-71
- [16] Yi D, Zhang H, Lai B, Liu L, Pan X, Ma Z, Wang Y, Xie J, Shi S, Wei Y. Integrative analysis of the coloring mechanism of red longan pericarp through metabolome and transcriptome analyses [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(6): 1806-1815
- [17] 郑晟, 毛玉珊, 张腾国, 聂亭亭. 柠条锦鸡儿 F3H 基因克隆及功能分析 [J]. 广西植物, 2017, 37(6): 723-733
Zheng S, Mao Y S, Zhang T G, Nie T T. Cloning and expression analysis of *F3H* gene in *Caragana korshinskii* [J]. *Guihaia*, 2017, 37(6): 723-733
- [18] Fang Z, Kui L, Jiang C, Zhou D, Lin Y, Pan S, Espley R V, Ye X. Postharvest temperature and light treatments induce anthocyanin accumulation in peel of 'Akihime' plum (*Prunus salicina* Lindl) via transcription factor PsMYB10. 1 [J/OL]. *Postharvest Biology and Technology*, (2021-05-19). DOI: doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111592
- [19] Wilson M C, Mutka A M, Hummel A W, Berry J, Chauhan R D, Vijayaraghavan A, Taylor N J, Voytas D F, Chitwood D H, Bart R S. Gene expression atlas for the food security crop cassava [J]. *New Phytologist*, 2017, 213: 1632-41
- [20] Yan P, Zeng Y, Shen W, Tuo D, Li X, Zhou P. Nimble cloning: A simple, versatile, and efficient system for standardized molecular cloning [J/OL]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, (2020-01-15). DOI: doi.org/10.3389/fbioe.2019.00460
- [21] An F, Xiao X, Chen T, Xue J, Luo X, Ou W, Li K, Cai J, Chen S. Systematic analysis of bHLH transcription factors in cassava uncovers their roles in postharvest physiological deterioration and cyanogenic glycosides biosynthesis [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2022-06-16). DOI: doi.org/10.3389/fpls.2022.901128
- [22] Fernandez-pozo N, Rosli H G, Martin G B, Mueller L A. The SGN VIGS tool: User-friendly software to design virus-induced gene silencing (VIGS) constructs for functional genomics [J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(3): 486-488
- [23] Tuo D, Zhou P, Yan P, Cui H, Liu Y, Wang H, Yang X, Liao W, Sun D, Li X, Shen W. A cassava common mosaic virus vector for virus-induced gene silencing in cassava [J]. *Plant Methods*, 2021, 17: 74
- [24] Rahmawati RS, Khumaida N, Ardie S W, Sukma D, Sudarsono. Effects

- of harvest period, storage, and genotype on postharvest physiological deterioration response in cassava [J]. *Biodiversitas*, 2022, 23 (1): 100-109
- [25] 钟小菊, 吴晴阳, 张永康, 饶泽昌, 王飞, 黄胜和. 斑地锦黄烷酮-3-羟化酶基因及启动子的克隆与分析[J]. 西北植物学报, 2021, 41(9): 1475-1481
- Zhong X J, Wu Q Y, Zhang Y K, Rao Z C, Wang F, Huang S H. Cloning and analysis of flavanone 3-hydroxylase gene and its promoter from *Euphorbia maculata* L. [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41(9): 1475-1481
- [26] 杨飞芸, 白洁, 杨天瑞, 王瑞刚. *CiF3H* 基因克隆及功能分析[J]. 东北农业大学学报, 2019, 50(11): 53-60
- Yang F Y, Bai J, Yang T R, Wang R G. Cloning and function analysis of *CiF3H* Gene[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2019, 50 (11): 53-60
- [27] 张慧荣, 赵萍萍, 冯杰, 王迎春, 郑琳琳. 长叶红砂黄烷酮-3-羟基转移酶 3 基因(*RtF3H3*)的克隆、表达分析及酵母表达载体的构建[J]. 华北农学报, 2015, 30(5): 45-50
- Zhang H R, Zhao P P, Feng J, Wang Y C, Zheng L L. Cloning, expressing patterns and constructing yeast expression vectors of flavanone-3-hydroxylase 3 (*RtF3H3*) from *Reaumuria trigyna*[J]. *Acta Agriculturae Boreali Sinica*, 2015, 30(5): 45-50
- [28] Mahajan M, Yadav S K. Overexpression of a tea flavanone 3-hydroxylase gene confers tolerance to salt stress and *Alternaria solani* in transgenic tobacco[J]. *Plant Molecular Biology*, 2014, 85(6): 551-573
- [29] Jan R, Asaf S, Paudel S, Lubna, Lee S, Kim K M. Discovery and validation of a novel step catalyzed by OsF3H in the flavonoid biosynthesis pathway[J]. *Biology*, (2021-01-06). DOI:doi. org/10.3390/biology10010032
- [30] 许明, 伊恒杰, 郭佳鑫, 唐进兰, 林世强, 杨志坚, 郑金贵. 藤茶黄烷酮-3-羟化酶基因 *AgF3H* 的克隆及表达分析[J]. 西北植物学报, 2020, 40 (2): 185-192
- Xu M, Yi H J, Guo J X, Tang J L, Lin S Q, Yang Z J, Zheng J G. Cloning and expression analysis of a flavanone 3-hydroxylase gene from *Ampelopsis grossedentata* [J]. *Acta Botanica Boreali -Occidentalia Sinica*, 2020, 40(2): 185-192
- [31] Liu C J, Blount J W, Steele C L, Dixon R A. Bottlenecks for metabolic engineering of isoflavone glycoconjugates in *Arabidopsis* [J]. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99: 14578-14583
- [32] Qian Y, Zhang T, Yu Y, Gou L, Yang J, Xu J, Pi E. Regulatory mechanisms of bHLH transcription factors in plant adaptive responses to various abiotic stresses [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, (2021-07-18). DOI: doi. org/10.3389/fpls.2021.677611
- [33] 范敏, 金黎平, 黄三文, 谢开云, 刘庆昌, 屈冬玉. 干旱胁迫对马铃薯类黄酮和类胡萝卜素合成关键酶基因表达的影响[J]. 园艺学报, 2008, 35 (4): 535-542
- Fan M, Jin L P, Huang S W, Xie K Y, Liu Q C, Qu D Y. Effects of drought on gene expression of key enzymes in carotenoid and flavonoid biosynthesis in potato [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2008, 35 (4): 535-542

责任编辑: 吕晓梅



第一作者简介: 安飞飞, 博士, 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所副研究员, 硕士生导师, 主要从事木薯生物育种研究工作。先后主持国家自然科学基金(31601361)等省部级以上项目 4 项, 参与国家重点研发计划课题、国家自然科学基金等项目 10 项。作为第一或通讯作者发表论文 27 篇, 其中 SCI 收录 11 篇, 出版专著 2 部, 作为第一完成人获授权发明专利 2 件, 以第二完成人获‘华南 17 号’等新品种授权 2 件, 通过审定、认定或登记‘华南 14 号’等新品种 2 个; 获省部级奖 3 项。2022 年、2023 年分别获三亚崖州湾科技城 E 类人才、海南省自由贸易港 D 类人才称号。



通讯作者简介: 罗秀芹, 硕士, 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所副研究员, 主要从事木薯遗传育种研究工作。先后主持国家自然科学基金等省部级以上项目 2 项, 参与国家重点研发计划课题、国家自然科学基金等项目 6 项。作为第一或通讯作者发表论文 10 篇, 其中 SCI 收录 3 篇, 出版专著 3 部, 获植物新品种授权 3 件, 获省部级奖 2 项。2023 年获海南省自由贸易港 D 类人才称号。