

• 研究报告 •

吴月燕 浙江万里学院二级教授、研究生导师。主要从事园林园艺植物生理与分子生物学、植物生理生态等的教学和科研工作，为国家教育部和浙江省高等学校教学指导委员会委员；先后主持或参加了国家、省、市科研项目 20 余项，以第一负责人获得省部级、市级科技进步奖 10 余项；带领的科研团队培育葡萄和杜鹃花新品种 42 个，以第一发明人获得国家发明专利、新型专利及软件著作权 10 余项。



杜鹃花 *TPS* 基因家族鉴定及与萜类物质代谢的关系分析

杨国霞¹, 蒋宝鑫¹, 何凡¹, 吕思佳¹, 李东宾³, 贾永红¹, 朱平², 谢晓鸿¹, 吴月燕¹

1 浙江万里学院 生物与环境学院, 浙江 宁波 315100

2 江西省林业科学院, 江西 南昌 330033

3 宁波市林场, 浙江 宁波 315100

杨国霞, 蒋宝鑫, 何凡, 吕思佳, 李东宾, 贾永红, 朱平, 谢晓鸿, 吴月燕. 杜鹃花 *TPS* 基因家族鉴定及与萜类物质代谢的关系分析. 生物工程学报, 2022, 38(10): 3740-3756.

YANG GX, JIANG BX, HE F, LÜ SJ, LI DB, JIA YH, ZHU P, XIE XH, WU YY. Identification of terpene synthase gene family members in *Rhododendron* and its relationship with terpenoid metabolism. Chin J Biotech, 2022, 38(10): 3740-3756.

摘要: 萜烯合成酶 (terpene synthase, *TPS*) 能催化不同的前体物质生成不同的萜类化合物, 是合成萜类物质的关键酶。为探究杜鹃花 *TPS* 基因家族成员在萜类物质代谢过程中的表达模式, 本文基于杜鹃花基因组数据库, 利用生物信息学方法对杜鹃花 *TPS* 基因 (*TPS*) 进行家族成员鉴定; 通过云锦杜鹃和诺娃杜鹃两种不同种高山杜鹃的转录组测序结果, 结合 qRT-PCR、顶空固相微萃取和气相色谱-质谱联用技术, 分析两种杜鹃不同发育时期花瓣中 *TPS* 家族成员表达水平和代谢物含量变化关系。结果表明, 从杜鹃花基因组数据库中共鉴定获得 47 个 *RsTPS* 成员, *RsTPS* 家族成员长度在 591–2 634 bp 之间, 含有 3–12 个外显子不等, 编码 196–877 个氨基酸; *RsTPS* 家族成员

Received: March 23, 2022; **Accepted:** June 21, 2022

Supported by: Ningbo Science and Technology Innovation 2025 Major Special Project of Modern Seed Industry (2021Z005); Key Research and Development Project in Zhejiang Province, China (2021C02053); “Bioengineering” First Class Student Innovation Project in Zhejiang Province, China (CX2021047)

Corresponding author: WU Yueyan. E-mail: wyy2000@zww.edu.cn

基金项目: 宁波市科技创新 2025 现代种业重大专项项目 (2021Z005); 浙江省重点研发计划 (2021C02053); 浙江省“生物工程”一流学科学生创新项目 (CX2021047)

主要分布在叶绿体和细胞质；系统进化分析结果显示 *RsTPS* 基因分为 5 个亚组。通过分析转录组数据得到 7 个功能注释为 *TPS* 的基因家族成员，发现 *TPS1*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 的表达量在 4 个时期中呈现出先上升，到盛开期达到顶峰后再下降的趋势。对基因表达量变化与萜类物质含量变化进行相关性分析，发现 *TPS1*、*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 表达量与云锦杜鹃不同时期花瓣中萜类物质含量变化呈显著性正相关，推测这 6 个基因家族成员可能是参与云锦杜鹃花香调控的关键基因。

关键词： 杜鹃花；*TPS* 基因家族；生物信息学；表达分析；挥发性萜类物质

Identification of terpene synthase gene family members in *Rhododendron* and its relationship with terpenoid metabolism

YANG Guoxia¹, JIANG Baoxin¹, HE Fan¹, LÜ Sijia¹, LI Dongbin³, JIA Yonghong¹, ZHU Ping², XIE Xiaohong¹, WU Yueyan¹

1 College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, Zhejiang, China

2 Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330033, Jiangxi, China

3 Ningbo Forest Farm, Ningbo 315100, Zhejiang, China

Abstract: Terpene synthase (TPS) plays important roles in the synthesis of terpenoids which are the main fragrances in *Rhododendron* flowers. To understand the function of *TPS* genes in terpenoid metabolism in relation to flower aroma formation, we identified all *TPS* gene family members in *Rhododendron* by analyzing its genome database. We then used a transcriptomic approach to analyze the differential gene expression patterns of *TPS* gene family members in the scented flower *Rhododendron fortunei* compared to the non-scented flower *Rhododendron* ‘Nova Zembla’. The contents of terpenoid compounds in petals of the above two *Rhododendron* species at different developmental stages were also measured by using qRT-PCR and head space-solid phase micro-extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. Our results showed that a total of 47 *RsTPS* members, with individual lengths ranged from 591 to 2 634 bp, were identified in the *Rhododendron* genome. The number of exons in *RsTPS* gene ranged from 3 to 12, while the length of each protein encoded ranged from 196 to 877 amino acids. Members of the *RsTPS* family are mainly distributed in the chloroplast and cytoplasm. Phylogenetic analysis showed that *RsTPS* genes can be clustered into 5 subgroups. Seven gene family members can be functionally annotated as *TPS* gene family since they were temporally and spatially expressed as shown in the transcriptome data. Notably, *TPS1*, *TPS10*, *TPS12* and *TPS13* in *Rhododendron fortunei* were expressed highly in flower buds reached the peak in the full blossoming. Correlation analysis between gene expression levels and terpenoid content indicates that the expression levels of *TPS1*, *TPS4*, *TPS9*, *TPS10*, *TPS12* and *TPS13* were positively correlated with the content of terpenoids in the petals of *R. fortunei* at all flower developmental stages, suggesting that these six genes might be involved in the aroma formation in *R. fortunei*.

Keywords: *Rhododendron*; *TPS* gene family; bioinformatics; expression analysis; volatile terpenoids

杜鹃花属 (*Rhododendron*) 是杜鹃花科 (*Ericaceae*) 中最大的属, 是中国最大的木本被子植物属, 该属广泛分布于整个北半球, 从热带东南亚到澳大利亚东北部^[1]。全世界共有杜鹃花属 1 000 余种, 我国有丰富的杜鹃花资源, 是世界杜鹃分布中心, 约有 600 余种, 其中有 540 余种为我国南方及西南地区特有^[1-2]。杜鹃花种类丰富, 按是否具有香气可分为有香型和无香型杜鹃, 其中有香型杜鹃品种甚少。云锦杜鹃为有香型杜鹃, 是中国特有的杜鹃属物种。云锦杜鹃 (*Rhododendron fortunei*) 是杜鹃花科, 杜鹃花属^[3], 常绿杜鹃亚属植物, 云锦杜鹃花大、粉红色, 开花时具有芳香^[4], 广泛分布于海拔 620–2 000 m 山脊向阳处或林下^[5-6], 具有较高的园林观赏价值。诺娃杜鹃 (*Rhododendron* 'Nova Zembla') 是杜鹃花科, 杜鹃花属, 常绿杜鹃亚属植物, 诺娃杜鹃花朵为宽漏斗形且花瓣呈深玫红色, 最上一枚花瓣具有深褐红色斑点, 开花时无香味散发, 属于无香型杜鹃, 它可耐受寒冷–28 °C, 可种植于高海拔地区, 是目前高山杜鹃畅销的品种之一。与花色、花型等其他花朵性状的研究相比, 对于花香的研究相对滞后, 直到近几年才逐渐深入。当前, 对植物花香物质合成途径及关键基因研究已成为热点^[7]。

花香是植物的重要性状, 在植物生长发育及进化中起着非常重要的作用, 如保护植物自身免受病原体、寄生虫和草食动物的伤害, 还可吸引授粉者和种子传播者^[8]。植物花香由一系列低分子量的挥发性化合物组成, 在植物与生物和非生物因素相互作用下产生, 穿过细胞膜并释放到周围环境中^[9]。植物不同器官均可释放挥发性有机化合物, 迄今为止, 已鉴定出 1 700 多种花香挥

发性有机化合物, 合成途径有萜类、苯丙类/苯类和脂肪酸类生物合成途径^[10]。

萜类化合物, 也被称为萜烯或类异戊二烯, 萜类化合物是植物产生的挥发性化合物中含量最多且种类最丰富的化学物质^[11], 与参与初级代谢的少量萜类相比, 大多数萜类为次生代谢物, 虽然它们不参与植物的基本生长发育, 但它们仍具有重要作用, 它们是芳香化合物主要成分也是药理化合物, 且能参与植物的防御反应^[12]。近年来, 本研究团队测定了云锦杜鹃花瓣香气物质成分, 分析结果得出云锦杜鹃特征香气成分有苯环型化合物、萜类化合物和醇类化合物, 其中苯环型化合物相对含量最高, 萜类化合物种类最多^[13]。萜烯合成酶 (terpene synthases, TPSs) 是萜类化合物合成的关键酶, 可催化不同的前体物质最终生成不同的萜类化合物。虽然萜类化合物的种类众多且数量庞大, 但它们都由二甲基烯丙基二磷酸 (dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP) 和异戊烯基二磷酸 (isopentenyl pyrophosphate, IPP) 经一系列催化过程而形成^[14]。DMAPP 与 IPP 在戊烯基转移酶的催化下缩合产生直接前体香叶酰二磷酸 (geranyl pyrophosphate, GPP)、法呢基二磷酸 (farnesyl pyrophosphate, FPP) 和香叶基香叶基焦磷酸 (geranylgeranylpyrophosphate, GGPP)。随后, TPSs 催化前体形成多种萜类化合物, 包括半萜 (C₅)、单萜 (C₁₀)、倍半萜 (C₁₅) 和二萜 (C₂₀)^[12]。TPS 基因家族系统分为 7 个亚家族, 分别为 *TPS-a*、*TPS-b*、*TPS-c*、*TPS-d*、*TPS-e/f*、*TPS-g* 和 *TPS-h*。其中 *TPS-a*、*TPS-b* 和 *TPS-g* 存在于被子植物中, *TPS-a* 主要合成倍半萜合酶, *TPS-b* 和 *TPS-g* 主要合成单萜合酶; *TPS-c* 与 *TPS-e/f* 密切相关, 主要合成二

萜合酶, *TPS-c* 存在于裸子植物中, *TPS-ef* 存在于维管植物中^[14-15]。近年来已在多种植物中鉴定出 *TPS* 基因家族成员, 如小麦^[16]、拟南芥^[17]和葡萄^[18]等, 拟南芥中鉴定出 32 个 *AtTPS* 基因, 在小麦和葡萄中分别发现 14 个 *TaTPS* 和 152 个 *VvTPS* 基因。

对杜鹃花 *TPS* 基因家族进行的研究为杜鹃花香合成分子机制研究奠定基础。本研究采用生物信息学分析的方法, 下载杜鹃花 (*Rhododendron simsii*) 基因组序列及蛋白组序列, 首次对杜鹃花中 *TPS* 基因家族成员进行鉴定, 从基因结构及系统进化分析、染色体定位及保守基序等方面进行分析, 结合云锦杜鹃转录组测定结果, 分析云锦杜鹃不同生长发育时期花瓣中的表达水平, 使用顶空固相微萃取和气相色谱-质谱联用技术, 测定不同时期云锦杜鹃花瓣中萜类物质含量, 本文实验的试供材料云锦杜鹃与诺娃杜鹃与鉴定 *TPS* 基因家族成员所采用基因组均为杜鹃花科、杜鹃属的常绿亚属灌木、落叶灌木植物, 为研究 *TPS* 基因家族成员在杜鹃花香代谢调控中的作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试供材料为长势良好的 9 年生云锦杜鹃和 15 年生诺娃杜鹃, 种植于浙江省宁波市四明山国家森林公园。随机选取 5 株长势基本一致的云锦杜鹃植株和 5 株长势基本一致的诺娃杜鹃植株, 从中采集不同时期且无机械损伤的杜鹃花, 根据花瓣开放程度分为 4 个时期。分别为花瓣紧闭的花芽期、花瓣未完全张开的花苞期、花瓣呈完全开放状态的盛开期和花瓣凋零出现黄色的衰败期。将样品用液氮迅速冷冻后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱保存备用。

1.2 方法

1.2.1 *RsTPS* 家族成员的鉴定

本研究从美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 上下载杜鹃花 (*Rhododendron simsii*) 基因组序列和蛋白质序列。在 Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) 数据库中下载含有 *TPS* 基因结构域的种子文件 PF01397 和 PF03936, 利用 HMMER3.1 软件搜索杜鹃花 *TPS* 基因家族, 得到 65 条候选序列; 将得到的蛋白序列进一步通过 NCBI Conserved Domain Database (CDD) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>) 数据库进行结构域验证, 经过手动确认后, 除去非全长序列, 得到候选的具有全长开放阅读框 (open reading frame, ORF) 的杜鹃花 *TPS* 家族成员序列, 最终得到 47 个 *RsTPS* 家族成员。利用在线软件 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam>) 分析 *RsTPS* 家族成员的氨基酸数量、理论等电点、分子量大小和不稳定性指数等理化特性。利用 WoLF PSORT (<https://wolfpsort.hgc.jp/>) 进行亚细胞定位预测分析。

1.2.2 *RsTPS* 家族的系统进化树、保守基序以及基因结构分析

使用 MEGA 7 软件以默认参数将杜鹃花 *RsTPS* 蛋白序列进行多序列比对, 再用邻接法构建系统发育树, bootstraps 设置重复次数 1 000 次, 其余参数为默认。使用在线软件 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 预测 *RsTPS* 家族蛋白序列保守结构域, 使用 TBtools 软件展示保守基序结果。采用 GSDS2.0 在线网站 (<http://gsds.gao-lab.org/>) 绘制杜鹃花 47 个 *RsTPS* 基因家族成员的基因结构, 对其外显子数/编码区 (coding sequence, CDS) 进行分析; 利用 TBtools 软件将 *RsTPS* 系统进化树、保守结构域和基因结构结果按进化树顺序进行可视化。

1.2.3 *RsTPS* 家族进化树分析与染色体定位分析

从在线网站 Phytozome 13 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) 下载模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的 AtTPS 家族蛋白序列, 使用 MEGA 7 软件以默认参数将杜鹃花和拟南芥的 AtTPS 蛋白序列进行多序列比对, 再用邻接法构建系统发育树。从杜鹃基因组数据库中获取基因的位置信息, 使用在线网站 MG2C (http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.1/) 绘制染色体定位示意图。

1.2.4 转录组数据分析 *TPS* 基因表达模式

将贮藏的样品用干冰保存, 送至深圳华大基因股份有限公司进行转录组测序。将同一品种不同植株上采集的同一时期的样品混合建库测序, 每组样品进行 3 次生物学重复。诺娃杜鹃与云锦杜鹃分别以 NW 和 YJ 表示, 4 个时期分别为花芽期 A、花苞期 B、盛开期 C 和衰败期 D。使用单拷贝直系同源数据库 BUSCO 对组装的转录本进行质量评估, 通过与保守基因进行比较, 在一定程度上说明转录组组装的完整性。

1.2.5 qRT-PCR 分析

使用 Primer Premier 6 软件设计 *TPS* 家族基因的特异性引物 (表 1), 用 RNAPrep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (TIANGEN, China) 提取总 RNA, 使用 NovoScript Plus

All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix (gDNA Purge) 反转录试剂盒 (Novoprotein, China) 合成 cDNA。以 *EF1 α* 为内参基因, 使用 TransStart Tip Green qPCR SuperMix 试剂盒 (北京全式金生物技术有限公司) 进行 qRT-PCR 反应, 每个反应设 3 个重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行数据分析, 使用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析, 用 Origin 软件绘图。

1.2.6 不同时期杜鹃花瓣中萜类物质含量测定

本实验参考姚晨阳等^[19]的方法, 并作修改, 采用顶空固相微萃取 (head space-solid phase micro-extraction, HS-SPME) 结合气相色谱-质谱联用技术, 测定不同时期云锦杜鹃及诺娃杜鹃花瓣中 *TPS* 对应产物相对含量。气相色谱-质谱联用仪品牌为 Agilent, 型号为 78890B-5977B, 色谱柱品牌为 Agilent, 型号为 DB-Wax (30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m)。取样本 (100 \pm 10) mg 于 20 mL 顶空瓶中, 加入 10 μ L 2-辛醇为内标, 密封顶空瓶; 每个样品进行 6 次生物学重复。

萃取条件: 萃取温度: 60 $^{\circ}$ C; 萃取时间: 30 min; 解析时间: 4 min。

色谱条件: 载气: 氦气; 流速: 1 mL/min; 升温程序: 初始温度 40 $^{\circ}$ C, 保持 4 min, 以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 245 $^{\circ}$ C, 保持 5 min; 进样方式: 不分流进样。

表 1 *TPS* 家族基因表达分析的 qRT-PCR 引物

Table 1 qRT-PCR primers for expression analysis of *TPS*

Gene name	Forward primers (5'→3')	Reverse primers (5'→3')
<i>TPS1</i>	TGGTTAGTCACGCCTTGGA	CTTCTTGGTGAGTTGCTTGC
<i>TPS4</i>	TCGTTTGCCTTGGGACCTAT	CTGCGGATGTCGTTGAGAAG
<i>TPS9</i>	CGACAGGGTTCTCCAAGTATG	TAGCCTCAGCCACGGAATC
<i>TPS10</i>	TGCCGTTGAAAGGTGGGATA	GGTGAGGGATGATGTGAATGC
<i>TPS12</i>	CAAGCTCATCCAATGATCCG	GCCCAAATTCAGTGATTGCC
<i>TPS13</i>	GAAGTAGGCACAGACATCAAGG	CATCCAACCATCAAGGAGTAGG
<i>EF1α</i>	CTCGATTGCCACACTTCCCA	CATCTTCACCATCCCAGCGT

质谱条件：电离方式：EI 源；电离能量：70 eV；离子源温度：230 °C；接口温度：250 °C；四级杆温度：150 °C；全扫描模式，扫描范围 20–400 m/z。

定性分析：通过化学工作站数据处理系统检索及核对 NIST 标准质谱图库并结合有关文献进行解析，当匹配度大于 80 (最大值 100) 的鉴定结果予以使用。

定量分析：以 10 μ L 纯度 \geq 99.5%的 2-辛醇为标品，求得各挥发性成分相对于标准品的释放量 (ng/g)=(各组分的峰面积/标准品的峰面积) \times 标准品体积 (μ L) \times 标准品浓度 (μ g/ μ L) \times 1 000/样品量 (g)。

1.2.7 *TPS* 表达水平与萜类物质相关性分析

根据云锦杜鹃花瓣中萜类物质的含量变化和 *TPS* 成员的相对表达量，使用 SPSS 26.0 软件进行相关性分析后再用 Origin 软件绘制相关性热图，使萜类物质的释放与基因表达量的相关性结果可视化。

2 结果与分析

2.1 *RsTPS* 家族成员信息

在杜鹃花基因组中鉴定获得 47 个 *RsTPS* 家族成员，根据其在染色体上的位置，依次命名为 *RsTPS1*–*RsTPS47* (表 2)。杜鹃花 47 个 *RsTPS* 家族成员编码蛋白的理化性质分析结果如表 2 所示。*RsTPS* 基因编码的蛋白质氨基酸为 196–877 个，预测的分子量范围为 22.37–101.69 kDa。理论等电点 (isoelectric point, pI) 为 4.37–8.2，4 个成员 (8.5%) 具有碱性 (pI $>$ 7)，43 个成员 (91.5%) 被认为具有酸性 (pI $<$ 7)。不稳定性指数 (instability index) 范围为 29.32–50.82，具有 10 个不稳定性指数小于 40 的稳定蛋白，37 个不稳定性指数大于 40 的不稳定蛋白。脂肪族指数 (aliphatic index) 为

74.04–106.45，平均亲水性为–0.441–0.182，具有 39 个平均疏水性为负值的亲水性蛋白。亚细胞定位预测分析结果表明，有 24 个 *RsTPS* 成员 (51.0%) 主要存在于细胞质中，15 个 *RsTPS* 成员 (31.9%) 主要定位于叶绿体，少数成员主要定位于细胞核、内质网和细胞骨架。

2.2 *RsTPS* 家族的系统进化树、保守基序与基因结构分析

利用 *RsTPS* 蛋白氨基酸全长序列构建系统发育树，将 47 个 *RsTPS* 分为 5 个亚组，如图 1 和 2 所示。保守基序分析表明，*RsTPS* 家族成员中最保守的基序为 motif3，存在于除 *RsTPS* 16 外的所有成员中；其次是 motif1，有 45 个成员存在 motif1，2 个无 motif1 的成员均属于第 V 亚组；有 39 个成员存在 motif2，其中 8 个无 motif2 结构的成员中 4 个属于第 III 亚组；motif1 和 motif3 同时存在的家族成员有 44 个；motif1、motif2 和 motif3 均存在的成员有 36 个。基因结构分析表明，*RsTPS* 都具有外显子，不同亚组之间具有明显差异，外显子数介于 3–12 之间，同一亚组具有相似的基因结构。其中，第 I 亚组和第 II 亚组外显子数均在 3–6 范围内，第 IV 亚组外显子数在 5–8 之间，第 V 亚组外显子数在 10–12 之间。

2.3 *RsTPS* 家族的系统进化树和染色体定位分析

如图 3 所示，利用杜鹃花和拟南芥 *AtTPS* 家族蛋白序列构建系统发育树，根据 *RsTPS* 家族的系统进化树、保守基序与基因结构分析结果和进化树聚类可将 47 个 *RsTPS* 和 8 个 *AtTPS* 分为 A、B、C、D、E、F 六个亚组，*RsTPS*15、*RsTPS*25、*RsTPS*27–34 和 *RsTPS*36 基因结构相似，外显子数相近故分为一个亚组。F 组 *RsTPS* 成员最多，有 17 个，其他各组 *RsTPS* 数都在 6–11 之间，C 组成员全部来自于拟南芥，A、B、

表 2 杜鹃花 *TPS* 基因家族成员信息Table 2 Members of *RsTPS* gene family in *Rhododendron*

Gene name	Protein ID (NCBI)	No. of AA	Molecular weight	pI	Instability index	Aliphatic index	GRAVY	Subcellular location
<i>RsTPS1</i>	KAF7150501.1	864	99.08	6.61	42.21	84.79	-0.325	Cytosol
<i>RsTPS2</i>	KAF7151762.1	835	51.63	6.19	39.99	85.51	-0.315	Cytosol
<i>RsTPS3</i>	KAF7151494.1	419	45.50	6.16	35.94	82.63	-0.325	Chloroplast
<i>RsTPS4</i>	KAF7150330.1	368	38.12	5.87	40.13	85.05	-0.278	Chloroplast
<i>RsTPS5</i>	KAF7151169.1	369	39.97	5.70	39.20	84.04	-0.324	Chloroplast
<i>RsTPS6</i>	KAF7148595.1	707	60.56	5.24	47.72	83.86	-0.320	Chloroplast
<i>RsTPS7</i>	KAF7144461.1	525	36.91	6.04	38.02	91.83	-0.258	Cytosol
<i>RsTPS8</i>	KAF7145602.1	480	52.52	5.78	45.51	89.83	-0.319	Cytosol
<i>RsTPS9</i>	KAF7146392.1	547	101.69	7.90	46.35	93.80	-0.293	Chloroplast
<i>RsTPS10</i>	KAF7145501.1	453	47.35	7.21	47.52	93.66	-0.255	Mitochondria and chloroplast
<i>RsTPS11</i>	KAF7146224.1	399	24.55	5.54	44.02	93.38	-0.331	Cytosol
<i>RsTPS12</i>	KAF7146676.1	331	95.09	8.20	31.28	98.43	-0.133	Cytosol
<i>RsTPS13</i>	KAF7144807.1	347	29.50	5.97	29.32	96.14	-0.216	Cytosol
<i>RsTPS14</i>	KAF7146169.1	533	28.98	5.59	49.40	87.47	-0.279	Cytosol
<i>RsTPS15</i>	KAF7145561.1	324	34.73	5.52	50.75	74.04	-0.441	Chloroplast
<i>RsTPS16</i>	KAF7145077.1	462	29.13	4.88	47.46	92.25	-0.242	Nucleus
<i>RsTPS17</i>	KAF7142879.1	877	24.86	7.33	40.65	83.07	-0.428	Cytosol
<i>RsTPS18</i>	KAF7141001.1	414	30.53	5.71	35.04	87.42	-0.263	Cytosol
<i>RsTPS19</i>	KAF7140427.1	210	42.92	4.73	43.54	92.43	0.069	Cytosol
<i>RsTPS20</i>	KAF7140868.1	256	26.04	4.37	35.81	90.74	-0.062	Chloroplast
<i>RsTPS21</i>	KAF7141198.1	245	25.07	5.15	41.68	91.14	-0.056	Cytosol
<i>RsTPS22</i>	KAF7142010.1	303	32.51	4.83	46.26	95.54	-0.110	Nucleus
<i>RsTPS23</i>	KAF7141456.1	251	48.03	5.02	50.82	106.45	0.182	Chloroplast
<i>RsTPS24</i>	KAF7141749.1	211	28.09	4.80	47.11	90.09	-0.131	Cytosol
<i>RsTPS25</i>	KAF7142095.1	265	29.27	5.21	36.81	95.66	-0.093	Cytosol
<i>RsTPS26</i>	KAF7140217.1	378	28.15	5.44	35.22	90.08	-0.245	Nucleus
<i>RsTPS27</i>	KAF7141331.1	224	35.36	4.93	44.60	96.70	0.070	Endoplasmic reticulum
<i>RsTPS28</i>	KAF7140772.1	218	34.46	4.87	47.17	101.51	-0.052	Cytosol
<i>RsTPS29</i>	KAF7139794.1	284	30.16	4.51	45.43	94.40	0.012	Cytosol
<i>RsTPS30</i>	KAF7141729.1	245	22.37	5.06	44.49	102.73	0.090	Chloroplast
<i>RsTPS31</i>	KAF7140902.1	259	72.28	4.69	45.29	99.38	0.137	Chloroplast
<i>RsTPS32</i>	KAF7141077.1	245	68.22	5.30	42.22	101.96	0.106	Chloroplast
<i>RsTPS33</i>	KAF7141507.1	315	50.89	5.76	41.41	93.75	-0.026	Cytosol
<i>RsTPS34</i>	KAF7141310.1	304	42.50	4.83	43.55	94.87	-0.015	Cytoskeleton
<i>RsTPS35</i>	KAF7129345.1	258	49.25	6.01	44.57	97.91	-0.033	Cytosol
<i>RsTPS36</i>	KAF7126774.1	196	46.26	4.93	47.72	97.45	0.058	Cytosol
<i>RsTPS37</i>	KAF7123307.1	621	71.25	5.53	45.34	86.81	-0.240	Chloroplast
<i>RsTPS38</i>	KAF7123219.1	586	63.99	5.13	42.31	89.32	-0.210	Chloroplast
<i>RsTPS39</i>	KAF7123140.1	437	55.27	4.98	43.2	88.99	-0.206	Cytosol
<i>RsTPS40</i>	KAF7123893.1	424	67.38	5.29	45.55	87.38	-0.229	Cytoskeleton
<i>RsTPS41</i>	KAF7125050.1	404	65.26	5.25	50.29	89.31	-0.182	Chloroplast
<i>RsTPS42</i>	KAF7120544.1	614	44.64	5.34	44.82	91.16	-0.305	Cytosol and Chloroplast
<i>RsTPS43</i>	KAF7119419.1	549	42.54	5.43	43.44	92.37	-0.364	Cytosol
<i>RsTPS44</i>	KAF7115943.1	484	81.54	5.57	45.74	93.29	-0.271	Cytosol
<i>RsTPS45</i>	KAF7115926.1	582	60.68	5.33	42.38	88.81	-0.322	Cytosol
<i>RsTPS46</i>	KAF7112783.1	560	55.19	5.05	42.56	86.52	-0.297	Cytosol
<i>RsTPS47</i>	KAF7112304.1	386	62.84	6.51	45.49	87.64	-0.201	Chloroplast

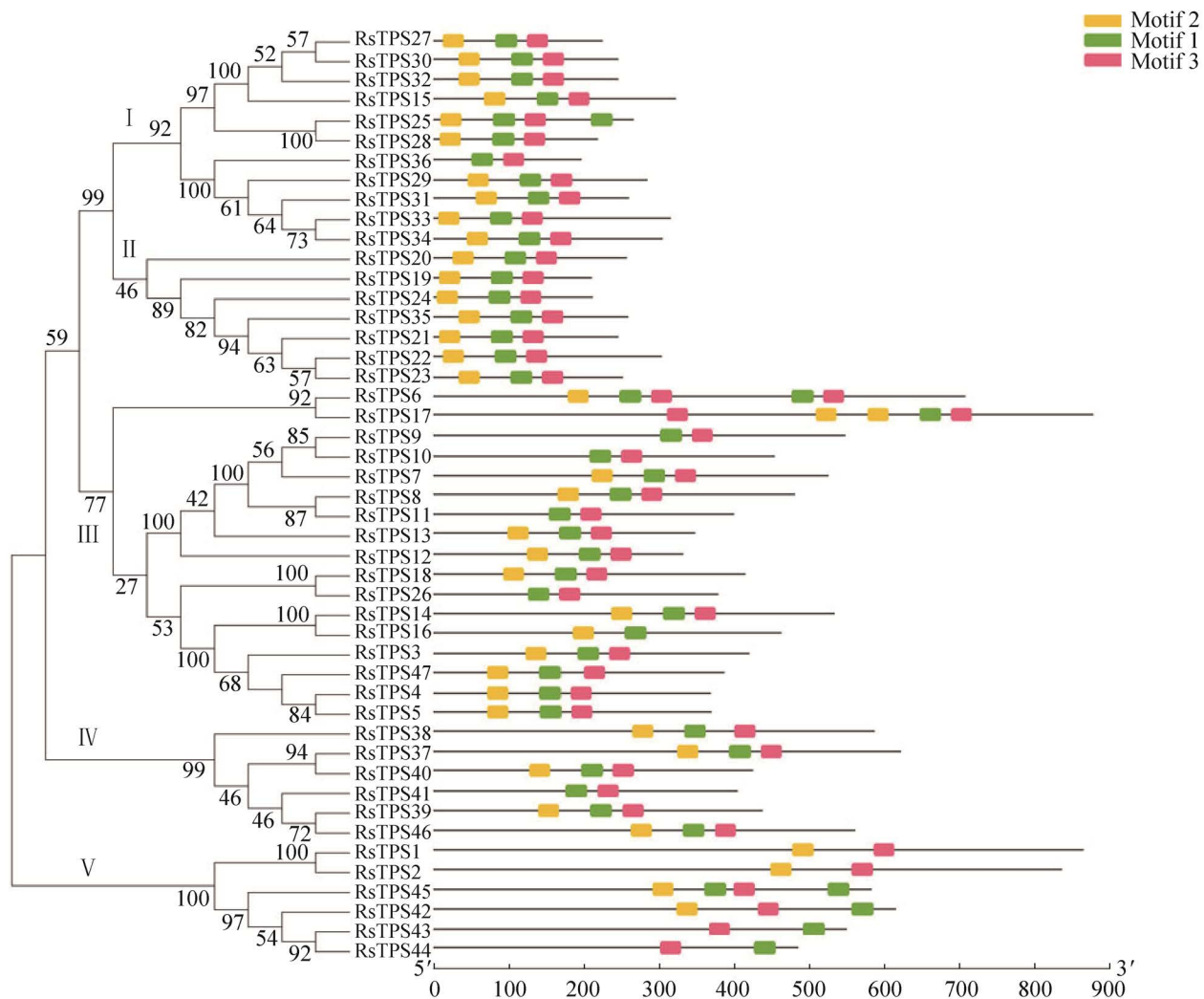


图 1 杜鹃花 *RsTPS* 基因家族成员基因结构分析
Figure 1 Genetic structure of *RsTPS* gene family members.

D 组成员都属于杜鹃花, E 组和 F 组拟南芥和杜鹃 *TPS* 均存在。如图 4 所示, 47 个 *RsTPS* 家族成员分布在 9 条染色体上, *RsTPS* 基因家族成员有 5 个分布在杜鹃的染色体 Chr2 上, 10 个分布在 Chr4, 17 个分布在 Chr6, Chr3、Chr5、Chr10 和 Chr11 上分别分布 1 个 *RsTPS* 基因家族成员, Chr12 上分布 5 个, Chr13 上分布 2 个。

2.4 不同时期杜鹃花瓣 *TPS* 基因家族的表达水平

从云锦和诺娃杜鹃花转录组测序的数据

库中筛选得到 7 条功能注释为 *TPS* 的基因。经软件对基因的表达量聚类, 如图 5 所示, 这 7 个基因在 8 组样品中均显示表达差异。在不同品种中表达差异显著, *TPS2* 只在诺娃杜鹃中高表达, *TPS1*、*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 在云锦杜鹃中高表达。在同一品种不同时期中的表达也存在显著差异。*TPS4* 和 *TPS9* 在云锦杜鹃花芽期表达量最高, 其表达量随花期呈现逐渐降低的趋势。*TPS4* 和 *TPS9* 在花芽期的表达量分别是花苞期、盛开期、衰

败期的 1.43 倍、1.47 倍、2.70 倍和 63.60 倍、41.90 倍、92.20 倍。*TPS1* 和 *TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 在云锦杜鹃盛开期表达量最高，且呈现出先上升后下降的表达趋势。*TPS1*、*TPS10*、*TPS12*、*TPS13* 盛开期的表达量依次是花芽期的 84.65 倍、163.10 倍、57.87 倍、5.37 倍；花苞期的 1.41 倍、2.37 倍、20.58 倍、1.73 倍；衰败期的 3.10 倍、2.17 倍、2.06 倍、

10.17 倍。

2.5 qRT-PCR 分析

如图 6 所示，这 6 个基因在 8 组样品中均显示表达差异。在不同品种中表达差异显著，*TPS1*、*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 都在云锦杜鹃中高表达。在同一品种不同时期中的表达也存在显著差异。*TPS1* 和 *TPS12* 在云锦杜鹃花苞期的表达量最高，呈现先上升后

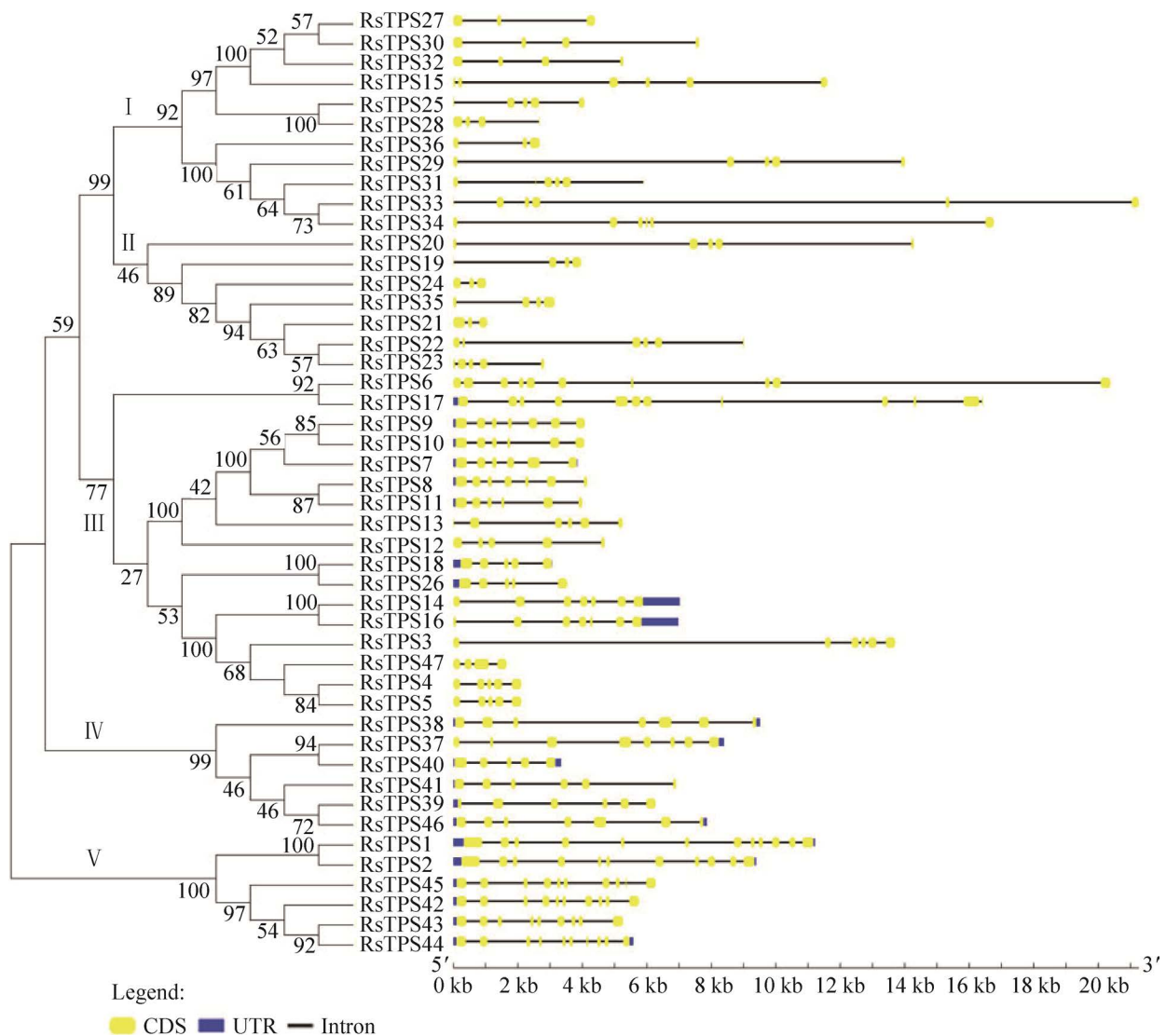


图 2 杜鹃花 *RsTPS* 基因家族成员保守基序分布

Figure 2 Conserved motifs of *RsTPS* gene family members.

下降的表达趋势，分别是花芽期的 10.89 倍、26.38 倍；盛开期的 1.13 倍、1.13 倍、衰败期的 2.62 倍、1.22 倍。*TPS4*、*TPS9* 和 *TPS10* 在云锦杜鹃盛开期表达量最高，且呈现出先上升后下降的表达趋势。*TPS4*、*TPS9* 和 *TPS10* 盛开期的表达量依次是花芽期的 1.32 倍、2.87 倍

和 34.15 倍；花苞期的 1.06 倍、1.79 倍和 1.72 倍；衰败期的 3.59 倍、1.71 倍和 1.11 倍。*TPS13* 在云锦杜鹃花芽期表达量最高，其表达量随花期呈现逐渐降低的趋势。*TPS13* 在花芽期的表达量分别是花苞期、盛开期和衰败期的 1.18 倍、1.37 倍和 1.52 倍。

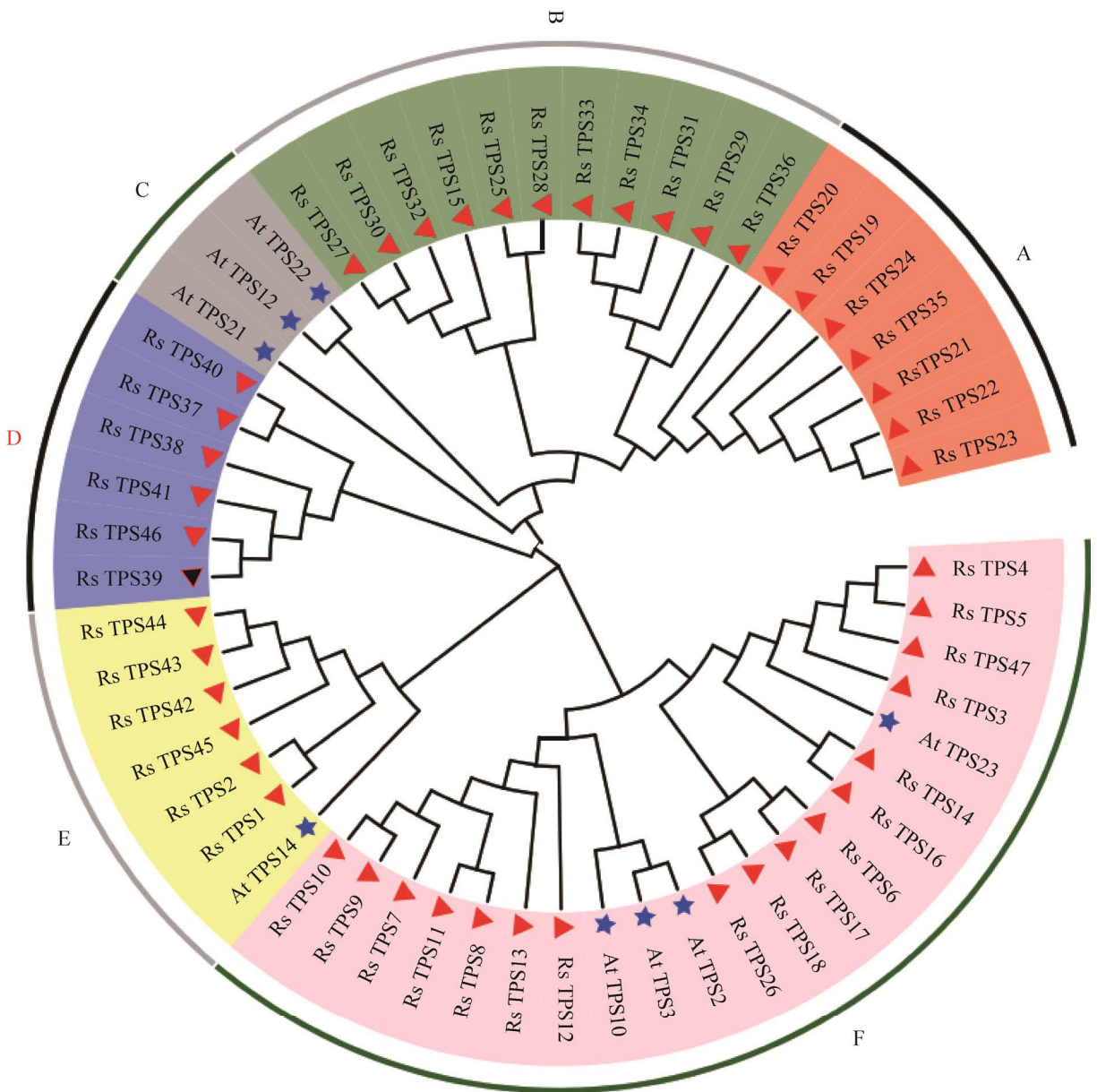


图 3 杜鹃花和拟南芥 *TPS* 蛋白系统发育进化树

Figure 3 Phylogenetic tree of *TPS* in *Rhododendron* and *Arabidopsis thaliana*.

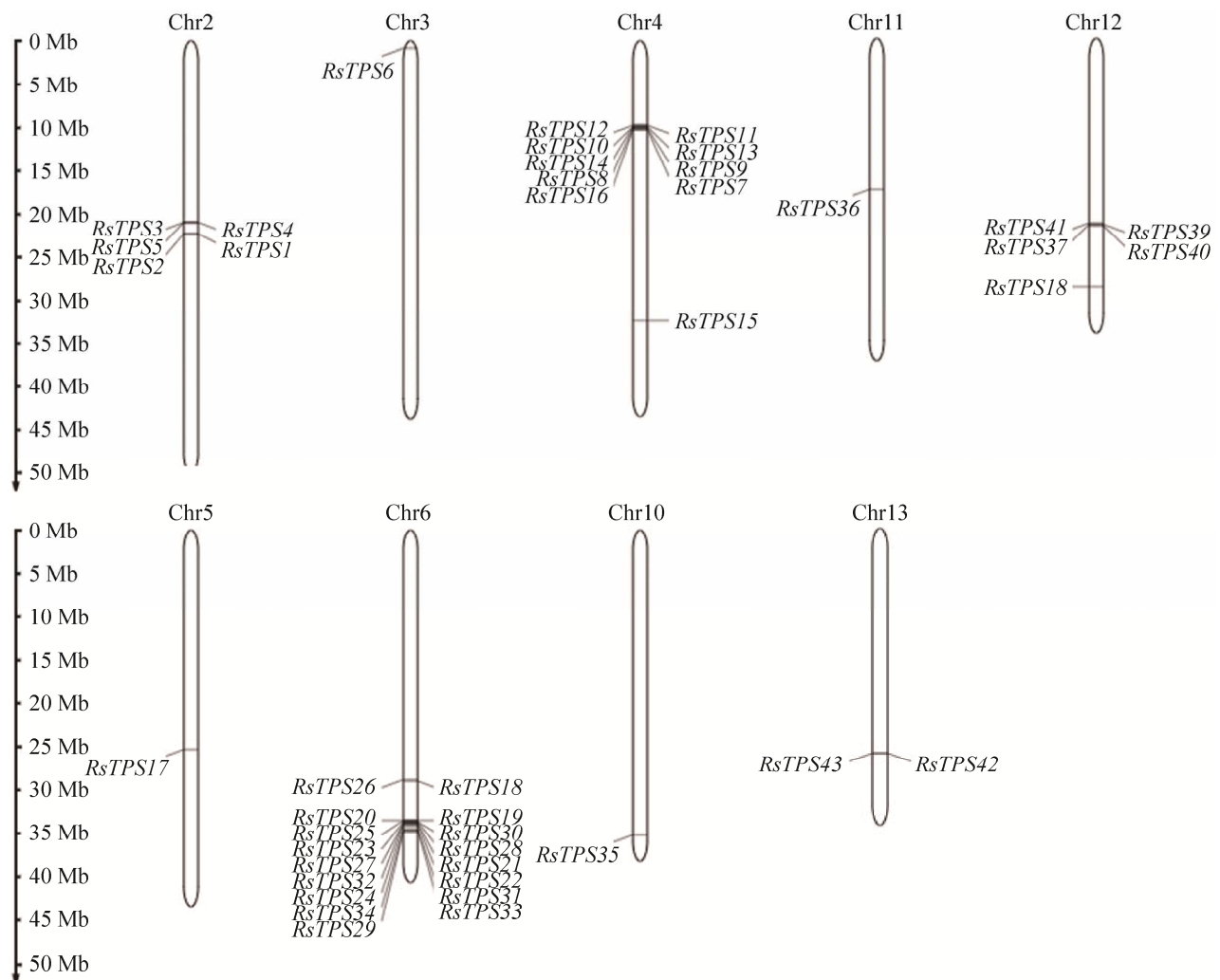


图 4 杜鹃花 *RsTPS* 基因家族染色体定位分析

Figure 4 Chromosome locations of *RsTPS* gene family members.

2.6 不同时期杜鹃花瓣中萜类物质含量测定分析

对云锦杜鹃和诺娃杜鹃 4 个时期花瓣挥发性成分进行鉴定分析, 对其中萜类物质进行分析, 利用软件绘制热图, 使云锦杜鹃与诺娃杜鹃不同时期的萜类物质的释放结果可视化 (图 7)。根据 GC-MS 检测出的 20 种含量最多的萜类物质分析, 不同品种杜鹃花释放的萜类物质含量有较大差异, 在同一品种杜鹃花的不同时期, 萜类物质释放量也不同。

在不同品种中, 萜类物质在诺娃杜鹃中释放量较少, 在云锦杜鹃中大量释放。在诺娃杜鹃中只检测出 13 种萜类物质, 其中 12 种萜类物质在花芽期含量最多, 含量呈逐渐下降趋势。在云锦杜鹃中, 只有 1 种萜类物质在花芽期释放量最多, 5 种萜类物质在花苞期释放量最多, 有 12 种萜类物质在盛开期释放量最多, 2 种萜类物质在衰败期释放量最多。在云锦杜鹃中, 萜类物质含量呈现出先上升后下降的变化趋势。

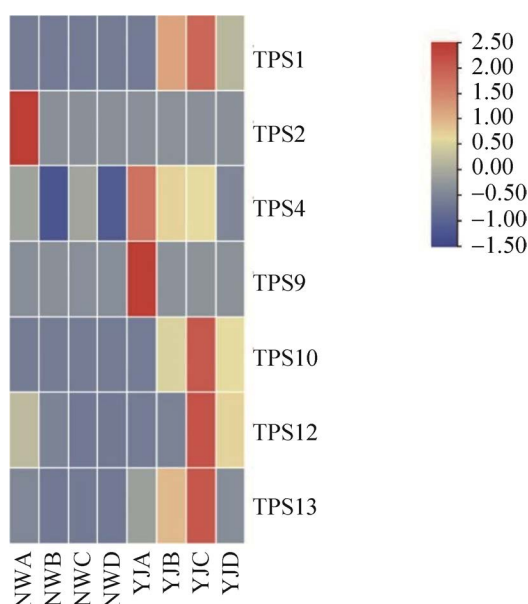


图 5 转录组分析云锦杜鹃和诺娃杜鹃不同时期 *TPS* 家族成员基因表达

Figure 5 Transcriptome analysis of gene expression of *TPS* gene family members in different periods of *R. fortunei* and *R. 'Nova Zembla'*.

2.7 *TPS* 表达量与萜类物质挥发量的相关性分析

转录组数据分析 *TPS* 表达量与萜类物质挥发量的相关性,如图 8 所示,*TPS1* 与 16 种 (80%) 萜类物质呈正相关,*TPS2*、*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 分别有 9 种 (45%)、6 种 (30%)、4 种 (20%)、17 种 (85%)、11 种 (55%) 和 13 种 (65%) 萜类物质呈正相关。*TPS1* 与 (-)-桃金娘醇、 α -蒎烯、反式芳樟醇氧化物、 β -蒎烯、芳樟醇、松油烯-4-醇、桉树醇、内龙脑、百里酚和蒎烯呈显著性正相关;*TPS9* 与顺式依兰油二烯-4,5-二烯、反-菖蒲烯和衣兰油烯呈显著性正相关;*TPS10* 与 α -蒎烯、反式芳樟醇氧化物、松油醇、桉叶油醇、芳樟醇、大牛儿烯 D、松油烯-4-醇和桉树醇呈显著性正相关;*TPS12* 与反式芳樟醇氧化物和大牛儿烯 D 呈显著性正相关;*TPS13* 与 (-)-桃金娘醇、 α -蒎烯

和反式芳樟醇氧化物呈显著性正相关。*TPS1*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 表达量与云锦花瓣中萜类挥发性物质含量呈显著性正相关。

qRT-PCR 分析 *TPS* 表达量与萜类物质挥发量的相关性,如图 9 所示,*TPS1* 与 16 种 (80%) 萜类物质呈正相关,*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 分别有 19 种 (95%)、17 种 (85%)、15 种 (75%)、14 种 (70%) 和 7 种 (35%) 萜类物质呈正相关。*TPS1* 与其中 12 种物质呈显著性正相关,*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 分别与其中 7 种、11 种、11 种、5 种和 2 种萜类物质呈显著性正相关。

结合转录组与 qRT-PCR 数据,最终得到 6 个可能参与杜鹃花香调控的基因,分别为 *TPS1*、*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13*。

3 讨论

3.1 *RsTPS* 家族的鉴定和分析

本研究共在杜鹃花中鉴定出 47 个 *RsTPS* 基因家族成员,并对 *RsTPS* 基因的理化性质、系统进化树、基因结构、保守基序与染色体定位进行分析。所构建的进化树结果中 *RsTPS9*、*RsTPS10*、*RsTPS12* 和 *RsTPS13* 聚类在同一亚组中,但与 *RsTPS1* 聚类在不同亚组,表明 *RsTPS9*、*RsTPS10*、*RsTPS12* 和 *RsTPS13* 成员间蛋白序列相差较小,而与 *RsTPS1* 间蛋白序列差异较大。*RsTPS* 家族成员编码的氨基酸个数在 196–877 个之间,分子质量为 22.37–101.69 kDa 之间,与其他物种中 *TPS* 家族成员氨基酸个数及分子质量相近,推测 *TPS* 家族成员蛋白结构在不同物种中相对保守。保守基序分析表明,各亚组的 *RsTPS* 基因均含有一类或几类相同的保守基序,表明 *RsTPS* 基因在进化过程中相对保守。基因结构分析表明,同一亚组的 *RsTPS* 成员外显子数在同一范围内,说明

RsTPS 家族成员具有相似的基因结构。*RsTPS* 基因家族存在不同分支上的差异、不同成员间基因结构的差异、预测的 motif 差异、等电

点和不稳定性等理化参数的差异以及不同成员在杜鹃花瓣不同阶段的表达差异，预示了 *RsTPS* 家族成员存在功能差异，为进一步研

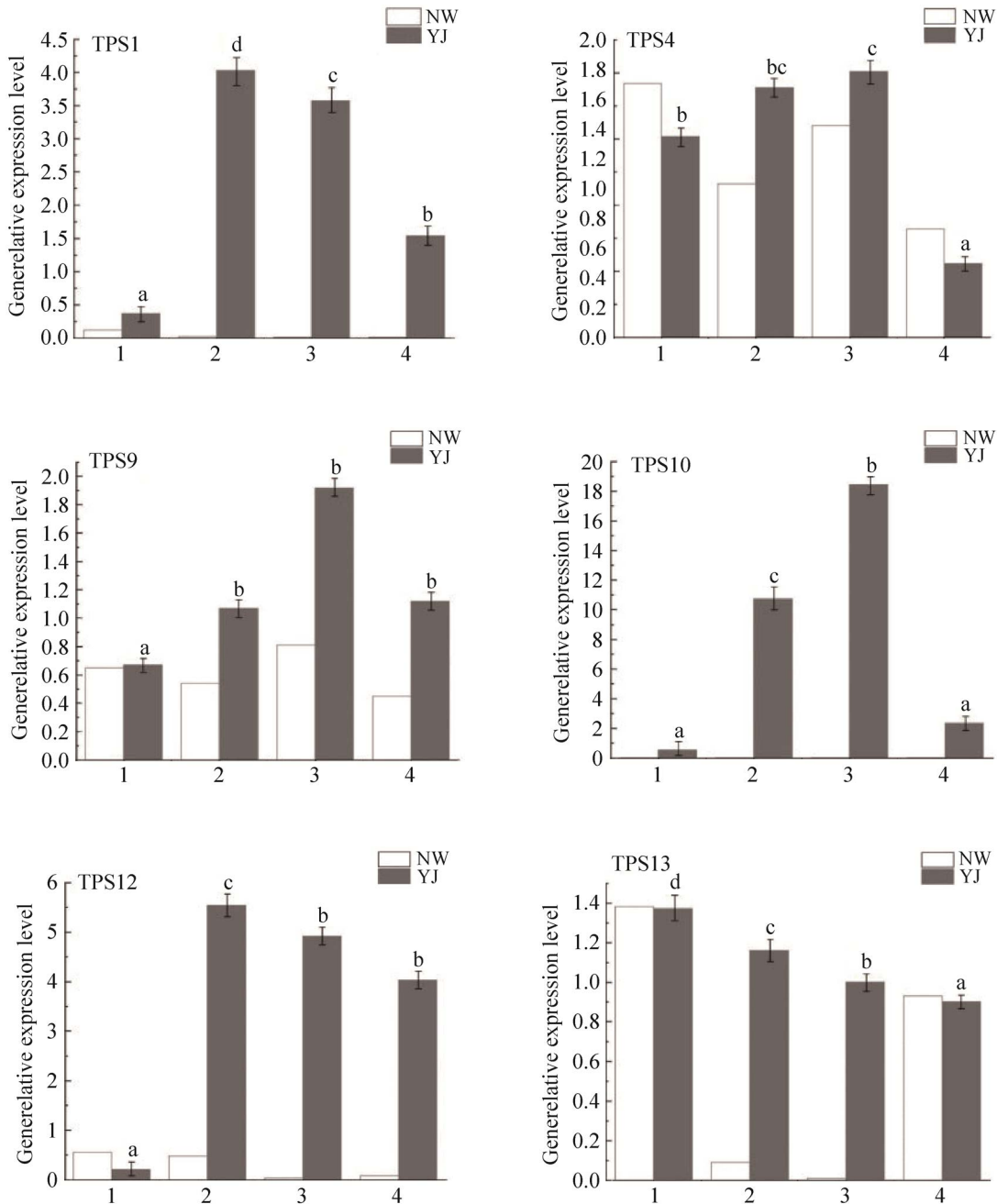


图 6 qRT-PCR 分析云锦杜鹃和诺娃杜鹃不同时期 *TPS* 家族成员基因表达

Figure 6 qRT-PCR analysis of gene expression of *TPS* gene family members in different periods of *R. fortunei* and *R. 'Nova Zembla'*. Different lowercase letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$).

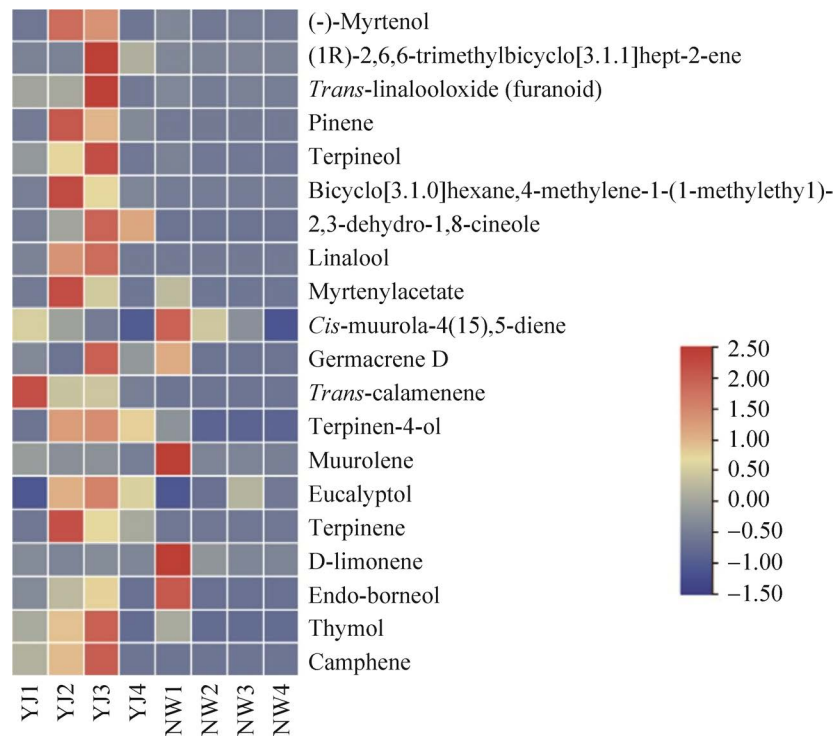


图 7 云锦杜鹃和诺娃杜鹃不同时期萜类物质释放

Figure 7 The release of terpenoids in different periods of *R. fortunei* and *R. 'Nova Zembla'*.

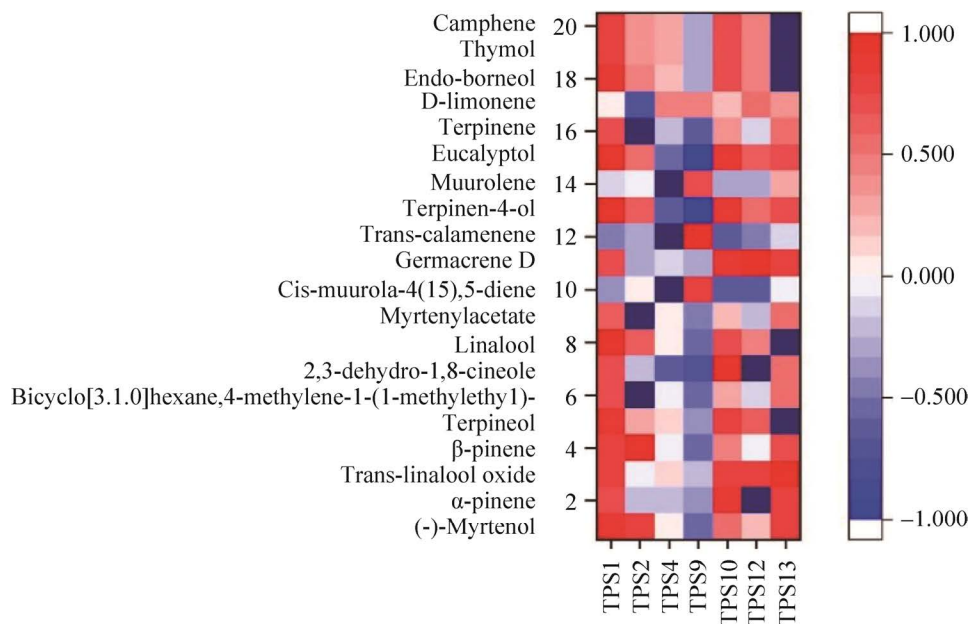


图 8 转录组数据分析云锦杜鹃 *TPS* 家族成员基因表达与挥发性萜类物质含量相关性

Figure 8 Transcriptome analysis of correlation analysis of gene expression and content of volatile terpenoids in *TPS* family members of *R. fortunei*.

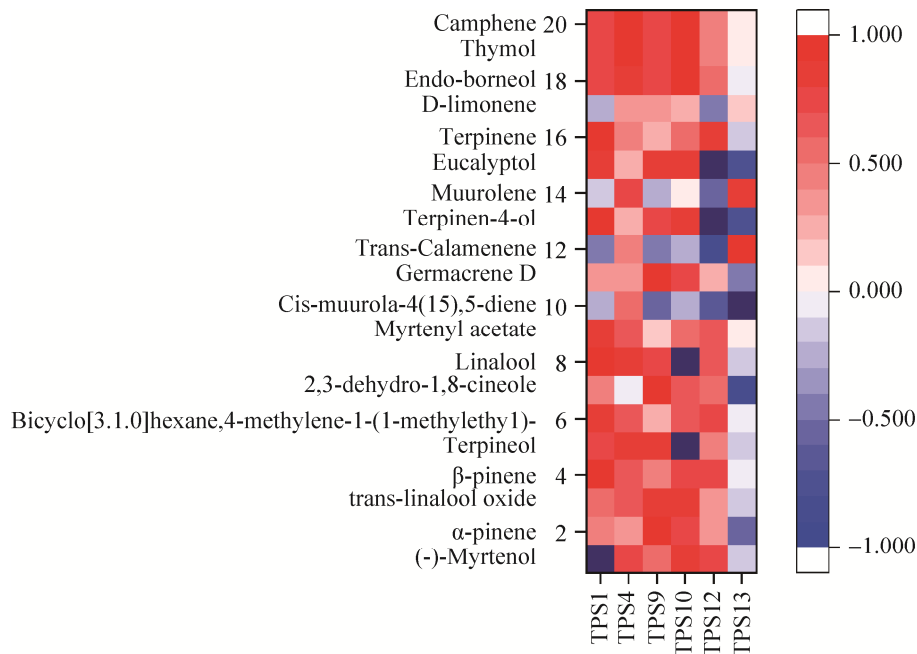


图9 qRT-PCR分析云锦杜鹃 *TPS* 家族成员基因表达与挥发性萜类物质含量相关性

Figure 9 qRT-PCR analysis of correlation analysis of gene expression and content of volatile terpenoids in *TPS* family members of *R. fortune*.

究 *RsTPS* 家族提供理论依据。转录组数据表明, *TPS1* 和 *TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 在云锦杜鹃盛开期表达量最高,最高分别是衰败期的 3.10 倍、花苞期的 2.37 倍、花芽期的 57.88 倍、衰败期的 10.17 倍,且呈现出先上升后下降的表达趋势。*TPS9* 在花芽期的表达量最高,最高是花苞期的 63.60 倍,呈现出先上升后下降的表达趋势。

3.2 *TPS* 家族可能参与花香调控

TPS 是通过催化复杂的碳正离子驱动的环化、重排和消除反应来生成不同种类萜类物质的关键酶,对 *TPS* 家族成员的进化差异和功能的继续研究将为萜类在调节与其他生物和环境的防御中的作用提供重要依据^[20]。多位学者发现 β-橙烯、芳樟醇、芳樟醇衍生物等是大多数品种花挥发物的主要成分^[21],近年来已在多种植物中鉴定出 *TPS* 家族成员,如番茄、铁

皮石斛和棉花等。Zeng 等^[21]发现两个不同品种的桂花‘Gecheng’和‘Liuye’在开花过程中‘Gecheng’的 *TPS1* 和 *TPS3* 的表达量是“Liuye”的 100 倍以上。*TPS1* 表达量持续增加,而 *TPS3* 在盛开期的表达量最高,表达水平呈先上升后下降趋势,且它们的表达与花期单萜的产生一致, *TPS* 基因的转录调控,特别是 *TPS1* 和 *TPS3*,可能是调控芳樟醇或 β-罗勒烯合成的最重要的机制,‘Gecheng’和‘Liuye’ *TPS* 基因表达水平的差异表明 *TPS* 基因对桂花单萜的形成有重要贡献。Coppola 等^[22]利用 RNA 干扰技术,沉默了番茄植株中 *TPS9* 和 *TPS12* 基因的表达,并评估了这种转化对食草动物和拟寄生生物的影响,发现沉默 *TPS9* 和 *TPS12* 基因的植株产生的挥发性物质与对照组不同,降低了对蚜虫的吸引力,并导致了夜蛾幼虫的发育受损,从而提高了对外界的抵抗,提高存活

率,进一步验证了 *TPS9* 和 *TPS12* 是调控挥发性物质产生的关键基因。Yu 等^[23]在铁皮石斛中共鉴定出 34 个 DoTPS 家族成员,其中 DoTPS10 可将 GPP 转化为芳樟醇;姜花的 HcTPS6 可催化 GPP 生成松萜、芳樟醇和香叶醇 3 种单萜类物质,HcTPS7 催化 GPP 产生香桉烯^[24];Huang 等^[25]于 2021 年发现 PbTPS4、PbTPS5、PbTPS10 可将 GPP 转化为芳樟醇,PbTPS3 参与合成(β)-顺式/芳樟醇。Huang 等^[26]系统地分析了棉花挥发性物质,并对 12 种萜烯合成酶(GhTPS4–15)进行了表征。将过表达 *GhTPS12* 转化烟草植株,产生(3S)-芳樟醇,提高了棉花对棉铃虫和桃蚜两种害虫的驱避能力。Li 等^[27]发现 *AsTPS18* 和 *AsTPS19* 被注释为异戊二烯合成酶,它们通过 MEP 途径催化 DMAPP 生成异戊二烯。*AsTPS21* 和 *AsTPS22* 被注释为共聚二磷酸合成酶,该酶参与二萜的生物合成。本研究中,在杜鹃花基因组中发现 47 个 *TPS* 家族成员,利用转录组数据对 *TPS* 家族成员表达水平进行分析,发现不同品种、不同时期 *TPS* 家族成员表达量不同。结合 qRT-PCR 测定结果和 GC-MS 测定结果,对基因表达水平和萜类物质含量进行相关性分析,*TPS1* 与 *TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 分别与 12 种、7 种、11 种、11 种、5 种和 2 种萜类物质呈显著性正相关。最终表明 *TPS1*、*TPS4*、*TPS9*、*TPS10*、*TPS12* 和 *TPS13* 可催化 GPP 生成多种萜类物质,参与花香调控。本文通过分析不同时期和不同品种杜鹃花瓣的 *TPS* 基因的表达模式,以及这些基因与萜类物质的相关性,从中鉴定出 6 个与多种萜类物质呈显著正相关的 *TPS* 基因,为后续研究杜鹃 *TPS* 家族基因调控花香提供了一定的理论依据。

REFERENCES

- [1] Liu N, Zhang L, Zhou YL, et al. The *Rhododendron* plant genome database (RPGD): a comprehensive online omics database for *Rhododendron*. BMC Genomics, 2021, 22(1): 376.
- [2] Liu JY, Guo PJ, Wang XL, et al. Study on phytochemical and pharmacological activities of four *Rhododendron* plants endemic to northeast China. J Agric Food Res, 2022, 7: 100255.
- [3] 吕思佳, 吴月燕, 贾永红, 等. 云锦杜鹃苯丙氨酸解氨酶基因的克隆及功能分析. 生物工程学报, 2022, 38(1): 374-385.
Lü SJ, Wu YY, Jia YH, et al. Cloning and functional analysis of the phenylalaninammonialyase gene from *Rhododendron fortunei*. Chin J Biotech, 2022, 38(1): 374-385 (in Chinese).
- [4] 金则新, 李钧敏, 顾奇萍. 云锦杜鹃自然居群遗传多样性的 ISSR 分析. 园艺学报, 2006, 33(6): 1263-1267.
Jin ZX, Li JM, Gu QP. Genetic diversity in the natural populations of *Rhododendron fortunei* revealed by ISSR molecular markers. Acta Horticult Sin, 2006, 33(6): 1263-1267 (in Chinese).
- [5] 袁丛军, 陈光丽, 戴晓勇, 等. 雷公山保护区云锦杜鹃群落结构及其多样性特征. 贵州农业科学, 2021, 49(11): 125-133.
Yuan CJ, Chen GL, Dai XY, et al. Structure and diversity characteristics of *Rhododendron fortunei* community in Leigong Mountain nature reserve. Guizhou Agric Sci, 2021, 49(11): 125-133 (in Chinese).
- [6] 张春英, 侯奕敏, 戴思兰. 云锦杜鹃菌根显微结构观察. 园艺学报, 2008, 35(11): 1641-1646.
Zhang CY, Hou YM, Dai SL. Observation on microstructure of mycorrhizal root of *Rhododendron fortunei* L.. Acta Horticult Sin, 2008, 35(11): 1641-1646 (in Chinese).
- [7] 王文静, 吕思佳, 何凡, 等. 云锦杜鹃 *RhLIS* 基因的克隆与表达分析. 核农学报, 2021, 35(12): 2724-2732.
Wang WJ, Lyu SJ, He F, et al. Cloning and expression analysis of linalool synthetase gene in *Rhododendron fortunei*. J Nucl Agric Sci, 2021, 35(12): 2724-2732 (in Chinese).
- [8] Koeduka T. Functional evolution of biosynthetic enzymes that produce plant volatiles. Biosci Biotechnol Biochem, 2018, 82(2): 192-199.

- [9] Dudareva N, Klempien A, Muhlemann JK, et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytol*, 2013, 198(1): 16-32.
- [10] Muhlemann JK, Klempien A, Dudareva N. Floral volatiles: from biosynthesis to function. *Plant Cell Environ*, 2014, 37(8): 1936-1949.
- [11] Tholl D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. *Biotechnology of Isoprenoids*. Cham: Springer International Publishing, 2015: 63-106.
- [12] Chen ZQ, Vining KJ, Qi XW, et al. Genome-wide analysis of terpene synthase gene family in *Mentha longifolia* and catalytic activity analysis of a single terpene synthase. *Genes*, 2021, 12(4): 518.
- [13] 章辰飞, 谢晓鸿, 汪庆昊, 等. 云锦杜鹃不同花期挥发性成分的 HS-SPME-GC-MS 检测与主成分分析. *广西植物*, 2020, 40(7): 1033-1045.
- Zhang CF, Xie XH, Wang QH, et al. Analysis of volatile components of *Rhododendron fortunei* at different flowering stages by HS-SPME-GC-MS and PCA. *Guihaia*, 2020, 40(7): 1033-1045 (in Chinese).
- [14] Newman JD, Chappell J. Isoprenoid biosynthesis in plants: carbon partitioning within the cytoplasmic pathway. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1999, 34(2): 95-106.
- [15] 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. *Plant J*, 2011, 66(1): 212-229.
- [16] Jiang SY, Jin JJ, Sarojam R, et al. A comprehensive survey on the terpene synthase gene family provides new insight into its evolutionary patterns. *Genome Biol Evol*, 2019, 11(8): 2078-2098.
- [17] Matarese F, Scalabrelli G, Onofrio CD. Analysis of the expression of terpene synthase genes in relation to aroma content in two aromatic *Vitis vinifera* varieties. *Funct Plant Biol*, 2013, 40(6): 552-565.
- [18] 姚晨阳, 葛红, 吴华, 等. 玫瑰不同品种花瓣挥发性成分分析. *园艺学报*, 2019, 46(2): 375-384.
- Yao CY, Ge H, Wu H, et al. Petal volatile components among different varieties of *Rosa rugosa*. *Acta Horticult Sin*, 2019, 46(2): 375-384 (in Chinese).
- [19] Karunanithi PS, Zerbe P. Terpene synthases as metabolic gatekeepers in the evolution of plant terpenoid chemical diversity. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1166.
- [20] Zeng XL, Liu C, Zheng RR, et al. Emission and accumulation of monoterpene and the key terpene synthase (TPS) associated with monoterpene biosynthesis in *Osmanthus fragrans* Lour. *Front Plant Sci*, 2016, 6: 1232.
- [21] Coppola M, Cascone P, Bossi S, et al. TPS genes silencing alters constitutive indirect and direct defense in tomato. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2748.
- [22] Yu ZM, Zhao CH, Zhang GH, et al. Genome-wide identification and expression profile of TPS gene family in *Dendrobium officinale* and the role of DoTPS10 in linalool biosynthesis. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5419.
- [23] 刘偲, 席婉, 袁金梅, 等. 桂花‘莲籽丹桂’芳樟醇合酶基因 *OfTPS5* 的克隆及功能鉴定. *园艺学报*, 2020, 47(2): 310-320.
- Liu C, Xi W, Yuan JM, et al. Molecular cloning and functional characterization of linalool synthase gene *OfTPS5* in *Osmanthus fragrans* ‘Lianzi dangui’ flowers. *Acta Horticult Sin*, 2020, 47(2): 310-320 (in Chinese).
- [24] Huang H, Kuo YW, Chuang YC, et al. Terpene synthase-b and terpene synthase-e/f genes produce monoterpenes for *Phalaenopsis bellina* floral scent. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 700958.
- [25] Huang XZ, Xiao YT, Köllner TG, et al. The terpene synthase gene family in *Gossypium hirsutum* harbors a linalool synthase GhTPS12 implicated in direct defence responses against herbivores. *Plant Cell Environ*, 2018, 41(1): 261-274.
- [26] Li RS, Zhu JH, Guo D, et al. Genome-wide identification and expression analysis of terpene synthase gene family in *Aquilaria sinensis*. *Plant Physiol Biochem*, 2021, 164: 185-194.

(本文责编 陈宏宇)