

DOI:10.11937/bfyy.201517049

# 调控观赏植物花色的类黄酮 3'羟化酶基因研究进展

丁 灵<sup>1,2</sup>, 李 崇 晖<sup>1,3</sup>, 黄 少 华<sup>1,3</sup>, 张 志 群<sup>1,3</sup>

(1. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 农业部华南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南 儋州 571737;  
2. 海南大学 园艺园林学院, 海南 海口 570100; 3. 海南省热带观赏植物种质创新利用工程技术研究中心, 海南 儋州 571737)

**摘 要:**综述了类黄酮 3'羟化酶基因(*F3'H*)调控观赏植物花色的分子机理及近年来的研究进展,总结了类黄酮生物合成途径中 *F3'H* 的作用,*F3'H* 基因的分离克隆及鉴定方法、表达模式及其对花色的影响,并提出未来研究的展望,以期为进一步明确 *F3'H* 基因调控花色的分子机理研究以及可能的花色定向育种提供参考。

**关键词:**花色;观赏植物;*F3'H* 基因;类黄酮

**中图分类号:**Q 946 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)17-0188-06

花色是观赏植物重要的观赏性状之一,不同花色的形成主要归于各类花色素。常见的花色素有类黄酮,类胡萝卜素和生物碱,其中类黄酮的影响最为广泛<sup>[1]</sup>。类黄酮,如花青素、黄酮和黄酮醇是高等植物重要的次生代谢产物,具有多种生理功能,如花瓣对传粉者的吸引,紫外线照射的防护,与微生物的相互作用,植物抗病、防御,生育力和花粉萌发等,此外,它们也可以在人体中用作抗氧化剂和潜在的抗癌药物<sup>[2-3]</sup>。

植物类黄酮合成途径是植物次生代谢产物合成途径中研究得最充分的<sup>[4]</sup>。类黄酮合成分支途径能产生 2 类色素,有颜色的花青素和辅助色素黄酮、黄酮醇<sup>[5]</sup>。作为重要的花色素,类黄酮合成途径的调控在观赏植物研究中非常受重视<sup>[6]</sup>。类黄酮 3'羟化酶(flavonoid 3'-hydroxylase)基因 *F3'H* 是类黄酮合成过程中关键的酶基因,催化生成的圣草酚(eriodictyol)和二氢槲皮素(dihydroquercetin)是合成矢车菊(cyanidin)类花青素重要的中间产物,催化生成的黄酮和黄酮醇是花青素常见的辅助色素,与花青素形成复合物增加其吸收能力和吸收最大值<sup>[7]</sup>,*F3'H* 在观赏植物粉-红色调花色的形成中起着关键作用。然而在观赏植物中对 *F3'H* 分子生物学

方面的特征描述相对较少,因此,文章对 *F3'H* 基因研究进行了总结,为未来开展花色育种工作提供参考。

## 1 *F3'H* 简介

*F3'H* 属于细胞色素 P450 家族,细胞色素 P450 依赖的单加氧酶在高等植物中形成最大的蛋白质家族之一。*F3'H* 氨基酸序列中含细胞色素 P450 家族的 5 个高度保守的结构域:疏水性膜锚定、富含脯氨酸的铰链[PI]-P-G-P-X-[GP]-P(PPxP)、氧结合基序[AG]-GX-[ED]-T-[TS]、EXXR 三联、半胱氨酸血红素结合区[FW]-[SNGH]-X-[GD]-{F}-[RKHPT]-{P}-C-[LIVM-FAP]-[GAD]<sup>[8]</sup>。*P450* 基因具有明显单系起源的群体被指定为一个氏族,迄今已知 10 个氏族,*F3'H* 被分类为 CYP75B 亚家族,是 CYP71 氏族 CYP75 家族的一部分<sup>[9]</sup>。

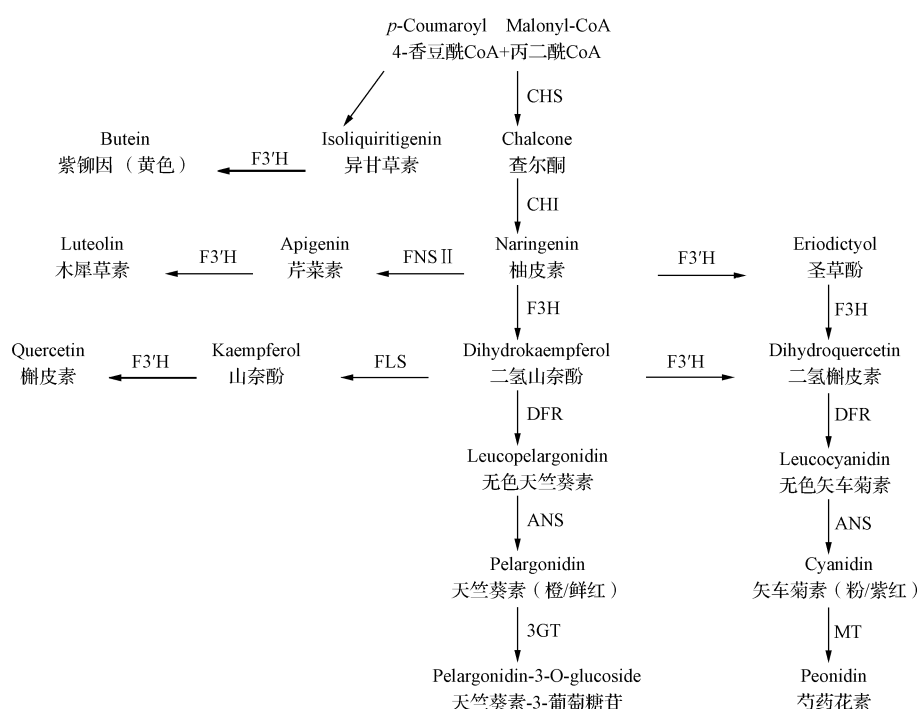
*F3'H* 主要催化依赖 NADPH 和 O<sub>2</sub> 的加氧反应,通常表现出宽泛的底物特异性<sup>[4]</sup>,影响类黄酮 B-环 3'位置,但是一般不催化查尔酮 3'-位置的羟基化<sup>[8]</sup>。*F3'H* 在分支合成途径中起关键作用,它催化芹菜素(apigenin)(黄酮)生成木犀草素(luteolin)(黄酮)、山奈素(kaempferol)生成槲皮素(quercetin)(黄酮醇)、柚皮素(naringenin)和二氢山奈酚(dihydrokaempferol)生成圣草酚和二氢槲皮素(图 1),圣草酚和二氢槲皮素都是合成矢车菊素(cyanidin)类花青素的中间产物。*F3'H* 酶在花瓣中的存在可能消耗掉产生天竺葵素(pelargonidin)的底物,生成产生矢车菊类花青素的底物<sup>[10]</sup>。矮牵牛属(*Ipomoea*)从蜜蜂授粉到蜂鸟授粉的过渡伴随着花朵蓝/紫色到红色的变化,已了解 *F3'H* 顺式调控突变参与了重定向花青素途径的不同分支<sup>[11]</sup>。

**第一作者简介:**丁灵(1991-),女,硕士研究生,研究方向为热带花卉生理与分子生物学。E-mail:1060639000@qq.com

**责任作者:**李崇晖(1983-),女,副研究员,现主要从事热带花卉生理与分子生物学等研究工作。E-mail:blchh@sina.com

**基金项目:**国家星火计划重大资助项目(2012GA800003);农业公益性行业科研专项资助项目(201203071)。

**收稿日期:**2015-05-25



注:CHS,查尔酮合酶;CHI,查尔酮异构酶;F3H,黄烷酮 3-羟化酶;F3'H,类黄酮 3'-羟化酶;FNSII,黄酮合酶II;FLS,黄酮醇合酶;DFR,二氢黄酮醇还原酶;ANS,花青素合酶;3GT,类黄酮 3-葡萄糖基转移酶;MT,甲基转移酶。

图 1 F3'H 参与的类黄酮生物合成途径<sup>[8,12]</sup>

Fig. 1 Biosynthetic pathways of flavonoid which F3'H involved in<sup>[8,12]</sup>

## 2 F3'H 基因的分离鉴定

1999 年 BRUGLIERA 等<sup>[13]</sup>从矮牵牛(*Petunia hybrida* cv Old Glory Red)中克隆出 F3'H 基因,这是 F3'H cDNA 分离克隆的首次报道。目前已从矮牵牛 *Petunia hybrida* (AF155332)、夏堇 *Torenia* (AB057672)、金鱼草 *Antirrhinum kelloggii* (AB547161)、芍药 *Paeonia lactiflora* Pall (JQ070803)、杜鹃 *Rhododendron simsii* hybrids (AB289597)、郁金香 *Tulipa fosteriana* (KC261505 KC256779)、蝴蝶兰 *Phalaenopsis equestris* (KF769465)、百合 *Lilium* spp. (AB699161-AB 699163)、龙胆 *Gentiana triflora* (AB193313)、水仙 *Narcissus tazetta* (JX292106)、海棠 *Malus hybrid* (KF481684)、仙客来 *Cyclamen persicum* (GU808358)等观赏植物,以及大量的菊科植物:矢车菊 *Centaurea cyanus* (FJ753550)、菊苣 *Cichorium intybus* (FJ753548)、博纳里安蓝刺头 *Echinops bannaticus* (FJ753549)、非洲菊 *Gerbera hybrida* (DQ218417)、蓝眼菊 *Osteospermum hybrida* (DQ250711)、大丽花 *Dahlia variabilis* (FJ216428)、*D. variabilis* cv. Auroras kiss [GQ281058 (F3'H<sub>var1</sub>) 和 GQ281059 (F3'H<sub>var2</sub>)], 万寿菊 *Tagetes erecta* (FJ216430)、黑心菊 *Rudbeckia hirta* (FJ216431)、硫华菊 *Cosmos sulfurea* (FJ216426)、翠菊 *Callistephus chinensis* (AF313488) (EMBL/GenBank/DBJ 数据库接收号)等植物中分离

到了 F3'H 基因。

基本常用克隆 F3'H 基因的方法有 cDNA 文库筛选法和 RACE 法,基因功能验证常用酵母异源表达法(表 1)。

## 3 F3'H 基因序列及系统进化分析

据已报道的观赏植物 F3'H mRNA 序列,cDNA 全长度大约 1 338~1 575 bp,其中 91%大于 1 500 bp,编码的氨基酸 453~518 个,在不同的物种和品种中各不相同。在郁金香中为多拷贝<sup>[14]</sup>,在百合和大丽花中发现有 2 个等位基因<sup>[8,16]</sup>。

利用 MEGA 5.05 软件对来自 GenBank 的 24 种 F3'H 氨基酸序列进行系统进化分析。结果发现单子叶植物与其它双子叶植物的 F3'H 基本分别聚为两大类群,而双子叶植物本身又分为几个不同分支,其中几种菊科植物同属于一个大的分支,说明其亲缘关系较近(图 2)。百合 2 个等位基因 LhF3'H-1 LhF3'H-2 同源性高达 98%与毛油点草 *Tricyrtis hirta* (百合科) F3'H (BAH22519.1)表现出较高的同源性 78%<sup>[16]</sup>。菊科植物已经可知的 F3'H 序列,同源性达到 80%以上。金鱼草 *Antirrhinum kelloggii* 与 *A. majus* 有 90%同源性,与美女樱 *Verbena hybrida* Voss 和夏堇 *Torenia hybrid* 分别有 78%和 74%的同源性<sup>[18]</sup>。夏堇 F3'H 推导的氨基酸序列与矮牵牛有 80%的同源性<sup>[23]</sup>。

表 1 观赏植物  $F3'H$  分离克隆及鉴定

Table 1 Isolation and identification of  $F3'H$  from some ornamental plants

种类 Species	基因克隆 Genes cloning methods	基因功能验证 Gene function verification methods	参考文献 References
郁金香	RACE 法	未验证	[14]
蝴蝶兰	cDNA 文库筛选法	未验证	[15]
百合	RACE 法	未验证	[16]
芍药	RACE 法	未验证	[17]
金鱼草	cDNA 文库筛选法	农杆菌介导转入矮牵牛	[18]
大丽花、硫华菊	Proofreading PCR	酵母异源表达	[19]
松果菊	RACE 法	酵母异源表达	[20]
杜鹃	RACE 法	未验证	[21]
菊花	RACE 法	RNAi	[22]
翠菊	cDNA 文库筛选法	酵母异源表达	[22]
蓝眼菊、非洲菊、绿毛山柳菊	RACE 法	酵母异源表达	[22]
夏堇	cDNA 文库筛选法	酵母异源表达	[23]
矮牵牛	cDNA 文库筛选法	酵母异源表达, 转化矮牵牛	[13]

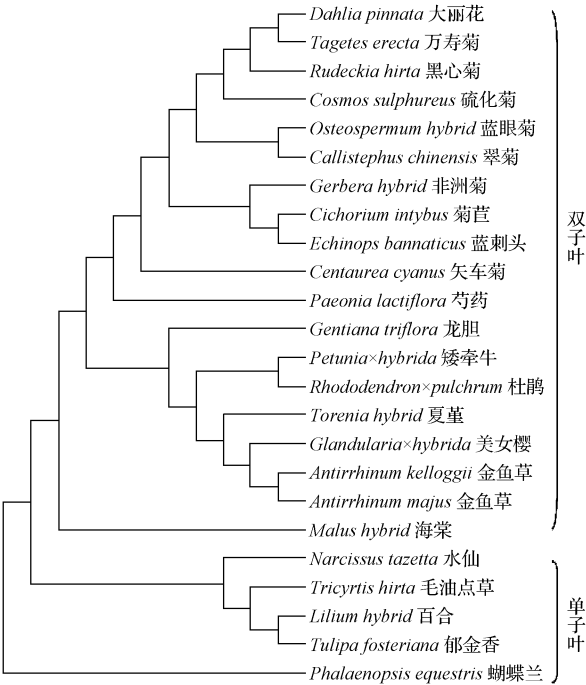


图 2 不同观赏植物  $F3'H$  的系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of  $F3'H$  from different species of ornamental plants

4  $F3'H$  基因的表达模式分析

$F3'H$  一般在各个组织中均有表达, 通常在有花青素沉着的花蕾时期表达量最高, 随着花的成熟逐渐降低, 在不同的观赏植物, 相同的植物不同品种中也不尽相同。

郁金香 *T. fosteriana* ‘Shangnong Zaoxia’ 中  $TFF3'H1$  的表达量在含花青素苷的花瓣中比含有少量或不含花青素苷的叶和茎中更加丰富<sup>[15]</sup>。虽然  $LhF3'H$  在百合花青素沉着的器官展现高的表达水平, 但在子房和叶中也能检测到表达<sup>[16]</sup>; 矮牵牛花瓣、子房、萼片、花梗、茎和花药均可检测到  $F3'H$  转录本, 在花瓣和子房中是最丰

富的, 在茎中水平较低, 叶、柱头和根中没有转录本<sup>[13]</sup>。在芍药根中表达量最高, 其次是叶、茎、花<sup>[17]</sup>。杜鹃中  $F3'H$  基因转录的水平最高的是叶组织<sup>[21]</sup>。在菊花中表达量最高的是芽, 新叶、老叶、花蕾和花中转录量相似<sup>[22]</sup>。

在百合中,  $LhF3'H$  转录本在花被片既不积累花青素也不积累黄酮醇的 St1 和 St2 时期丰度很低, 在 St3 时期最高, 在开花后阶段转录继续, 表明其在花被的早期阶段表达, 百合花被片花色素合成其它基因  $LhCHSa$ ,  $LhCHSb$ ,  $LhF3H$ ,  $LhF3'H$ ,  $LhDFR$  和  $LhANS$  在花蕾发育过程中协调转录<sup>[16]</sup>。在杜鹃中发现  $F3'H$  基因在

着色的初始阶段瞬时增加<sup>[21]</sup>。 $F3'H$  转录本在矮牵牛花发育的早期阶段最丰富,随着花冠开始全面着色和打开而下降<sup>[13]</sup>。在芍药中花蕾色素沉着前  $F3'H$  表达突出,随着花朵的发育逐渐下降(黄色品种除外)<sup>[17]</sup>,在郁金香 *T. fosteriana* 'Shangnong Zaoxia' 整个花发育中  $TFF3'H1$  的 mRNA 丰度都是非常低的,并表现出在任何花发育阶段间没有显著差异<sup>[14]</sup>。*T. fosteriana* 'Albert heijn' 中随着花发育  $F3'H$  表达逐渐增强<sup>[24]</sup>。

## 5 $F3'H$ 基因与花色

### 5.1 $F3'H$ 基因与花青素

5.1.1  $F3'H$  基因表达与花色 在蝴蝶兰中发现红色花中  $PhF3'H$  的表达量大约是黄色花的 19 倍,说明该基因对蝴蝶兰花青素苷的积累有重要影响<sup>[15]</sup>。郁金香粉色品种 'AH' 中  $F3'H$  的转录量远远高于橘色品种 'SN09'<sup>[24]</sup>。通过 RT-PCR 和 qRT-PCR 分析显示  $F3'H$  是菊花矢车菊素合成所需最重要的酶<sup>[25]</sup>,菊花因  $F3'H$  表达而积累矢车菊素使花序呈粉/红色<sup>[26]</sup>。通过农杆菌介导转化矮牵牛 *Skr4* × *SW63*,导入的  $F3'H$  表达对花色有明显影响,产生有粉红色花药和粉红色花粉到深粉红色花的转基因植物,通常比对照植株含更高水平的花青素,最显著的是 3',4'-羟基花青素和黄酮醇的含量<sup>[13]</sup>。在矮牵牛中表达金鱼草 *Antirrhinum kelloggii* 的  $F3'H$  基因,使花色变得更红,转基因植株所含的 3'-羟基化色素量增加(芍药色素和矢车菊素)<sup>[18]</sup>。夏堇  $F3'H$  基因过表达可以提高矢车菊素苷的积累量并产生了红色的花朵<sup>[23]</sup>。

5.1.2  $F3'H$  基因表达下调与花色  $F3'H$  的表达下调改变矢车菊型花青素在花中的比例从而导致花色的变化。在红色花青素积累的矮牵牛中下调内源  $F3'H$  表达并过表达玫瑰 *DFR* 基因,结果产生了有天竺葵素积累的橙色矮牵牛<sup>[27]</sup>,番薯属 (*Ipomea*)  $F3'H$  顺式调控区改变导致产生天竺葵素,花色从蓝色变为红色<sup>[11]</sup>。用 35S- $F3'H$  载体转化菊花品种 "LPI",明显降低转基因系的内源  $CmF3'H$  转录丰度,花青素含量减少为对照的 20%~40%,花色变淡<sup>[22]</sup>。抑制紫色的夏堇  $F3'H$  表达,同样使花青素含量减少,花色变淡<sup>[28]</sup>。郁金香中  $F3'H$  的表达与矢车菊素的积累呈正相关,浅红色品种 "SN09" 花色的形成是由于  $F3'H$  启动子插入突变,使转录活性下降,阻碍矢车菊素在花瓣中的合成<sup>[24]</sup>。 $F3'H$  也可以与其它酶基因一起改变观赏植物花色。抑制紫色的夏堇  $F3'H$  表达,同时抑制  $F3'5'H$  (类黄酮 3'5'-羟化酶基因)表达,插入天竺葵或玫瑰 *DFR* 基因,能产生更多的天竺葵素,使花色变红<sup>[28]</sup>。用 RNAi 介导干扰致使菊花内源性  $F3'H$  沉默,能进一步增加已导入三色堇  $F3'5'H$

的菊花花瓣中的飞燕草素水平<sup>[26]</sup>。可见,  $F3'H$  的表达下调一方面影响总花青素的含量,进而影响花色;另一方面与其它基因共同作用,通过分流改变矢车菊型花青素在花中的比例从而导致花色的变化。

5.1.3  $F3'H$  功能丧失与花色  $F3'H$  功能丧失已在牵牛花中进行了详细研究。大花牵牛 (*Ipomoea nil*)、圆叶牵牛 (*I. purpurea*) 和三色牵牛 (*I. tricolor*) 花冠均表现为亮蓝和深紫色,它们均含矢车菊素类花青素,而其红、粉、紫红突变体,均因缺失  $F3'H$  功能而积累天竺葵素衍生物。大花牵牛的  $F3'H$  基因序列中 1 个 C 变为 T,转换成终止密码子 TGA 的无义突变;在圆叶牵牛的几个粉红色的突变体中,  $F3'H$  在相同的位点插入属于 Ac/Ds 超家族的 0.55 kb DNA 转座因子 Tip201,它影响  $F3'H$  拼接和聚腺苷酸化模式;紫红色三色牵牛等位基因是单个 T 插入生成终止密码子 TAG,通过无义介导 RNA 衰退导致  $F3'H$  转录本的大大减少<sup>[29]</sup>。粉色圆叶牵牛 (*I. purpurea*) 的  $F3'H$  基因在第三外显子有 1 个 400 bp 的插入导致  $F3'H$  基因失活,使花色发生了不可逆的变化<sup>[30]</sup>。

### 5.2 $F3'H$ 基因的其它功能

$F3'H$  为类黄酮合成过程中关键的酶基因,催化芹菜素和山奈酚生成木犀草素和槲皮素,作为辅助色素的黄酮醇明显地与  $F3'H$  和合成途径其它的上游基因 (*CHS*、*F3H* 和 *FLS*) 有关<sup>[5]</sup>。在菊科中发现来自普通  $F3'H$ ,有额外 *CH3H* (chalcone 3-hydroxylation) 活性的特殊  $F3'H$ s 可催化查尔酮 3-位置羟基化,可能导致催化 6'-脱氧查耳酮异甘草素 (6'-deoxychalcones isoliquiritigenin) 生成黄色的紫柳因 (butein) 色素<sup>[8]</sup>。大丽花 'Michael J' 突变体 MJY 舌状花为亮黄色,这种颜色主要来自紫柳因<sup>[6]</sup>,就是由  $F3'H$ \_var2 催化异甘草素 (Isoliquiritigenin) 得到的<sup>[8]</sup> (图 1)。

$F3'H$  对观赏植物花斑的形成也有一定的作用。对柳叶菜科 (Onagraceae) 克拉花属植物 *Clarkia gracilis* 花斑的研究表明,花青素合成关键酶基因表达的时空特异性导致花斑的产生。*Clarkia gracilis* 中  $F3'H$ 、 $F3'5'H$ 、*DFR1* 在花瓣所有区域都表达,但  $F3'H$  只在花斑形成早期表达,  $F3'5'H$ 、*DFR1* 只在花斑形成后期表达; *DFR2* 仅在色斑区域且只在早期表达。这样  $F3'H$  与 *DFR2* 在花斑形成早期仅在色斑区的表达产生了矢车菊素,形成了初步的色斑;  $F3'5'H$ 、*DFR1* 后期的表达则产生了锦葵素,使得色斑颜色加深<sup>[31]</sup>。

## 6 $F3'H$ 基因的转录调控

目前关于  $F3'H$  转录调控的相关报道还很少。在模式植物拟南芥中发现 *PIF3* 过表达突变体中  $F3'H$  表



达水平升高,而 PIF3、HY5 突变 *F3'H* 表达水平降低, HY5 结合 *F3'H* 启动子特异的 ACEs, PIF3 结合 *F3'H* 启动子特异的 G-boxs<sup>[32]</sup>。LAITINEN 等<sup>[33]</sup>通过微阵列研究表明,非洲菊中 *GMYB10*(过量表达)可以调控 *F3'H* 基因上调表达。相似地,龙胆(*Japanese gentian*) GtMYBP3 和 GtMYBP4 具有 *F3'H* 基因启动子活化能力,可诱导 *F3'H* 基因的上调表达, GtMYBP3 诱导拟南芥 *F3'H* 基因的表达量上调 3 倍。GtMYBP4 在烟草中过表达使 *F3'H* 基因的表达增强 6 倍,靠近 Gt*F3'H* 启动子转录起始位点存在 2 个顺式作用元件,1 个 P-识别元件和 1 个含 ACGT 的元件, GtMYBP3 和 GtMYBP4 可能结合到 P-识别元件,激活下游基因的转录<sup>[34]</sup>。此外,含 ACGT 的元件潜在结合 bZIP 转录因子,它与 R2R3-MYB 一起在光诱导的色素沉着中起作用<sup>[35]</sup>。

## 7 结语和展望

近年来对观赏植物 *F3'H* 基因研究主要集中在花色形成机理和花色修饰方面。*F3'H* 与花色的形成密切相关,已开始成为花色改良的焦点基因,常与 *F3'5'H* 以及 *DFR* 同时被用于花色调控,虽然取得了一定的进展,然而离准确调控某一类色素的含量还有一定距离。类黄酮生物合成过程中涉及的酶种类繁多,且上游基因和下游基因之间的表达会有影响<sup>[5,17,22]</sup>,多基因协调作用较容易达到理想目标,未来花色改良研究可以同时调控包括 *F3'H* 在内的多个基因。

类黄酮的合成还受外界环境因子主要包括光、温度和糖等的影响,其中光是影响其合成最重要的环境因子之一<sup>[36]</sup>。有研究发现 *F3'H* 基因的表达量并未受高温影响<sup>[37]</sup>,有可能受光诱导的影响<sup>[38]</sup>,且关于 *F3'H* 及其转录调控的相关报道虽然近几年逐渐增多,但相比较其它酶基因还很少,研究环境因子对 *F3'H* 基因表达的影响,以及转录因子对 *F3'H* 表达调控,将有利于阐明特定类黄酮成分在植物中的生物合成机制。

## 参考文献

- [1] TANAKA Y, SASAKI N, OHMIYA A. Plant pigments for coloration: anthocyanins, betalains and carotenoids[J]. Plant J, 2008, 54(4): 733-749.
- [2] GRAF B A, MILBURY P E, BLUMBERG J B. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence[J]. J Med Food, 2005, 8(3): 281-290.
- [3] HARBORNE J B, WILLIAMS C A. Advances in flavonoid research since 1992[J]. Phytochemistry, 2000, 55(6): 481-504.
- [4] FORKMANN G, HELLER W. Comprehensive natural products chemistry[M]. Amsterdam: Elsevier, 1999: 713-748.
- [5] KEYSER E D, DESMET L, BOCKSTAELE E V, et al. How to perform RT-qPCR accurately in plant species? A case study on flower colour gene expression in an *azalea*(*Rhododendron simsii* hybrids) mapping population[J]. BMC Molecular Biology, 2013, 14(1): 13.
- [6] OHNO S, HOSOKAWA M, HOSHINO A, et al. A bHLH transcription factor, *Du1VS*, is involved in regulation of anthocyanin synthesis in dahlia (*Dahlia variabilis*) [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(14): 5105-5116.
- [7] GOTO T, KONDO T. Structure and molecular stacking of anthocyanins-flower color variation[J]. Angew Chem, 1991, 30(1): 17-33.
- [8] SCHLANGEN K, MIOSIC S, HALBWIRTH H. Allelic variants from *Dahlia variabilis* encode flavonoid 3'-hydroxylases with functional differences in chalcone 3-hydroxylase activity[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2010, 494(1): 40-45.
- [9] NELSON D R, SCHULER M A, PAQUETTE S M, et al. Comparative genomics of rice and Arabidopsis analysis of cytochrome P450 genes and pseudogenes from a monocot and a dicot[J]. Plant Physiol, 2004, 35(2): 756-772.
- [10] BOASE M R, LEWIS D H, DAVIES K M, et al. Isolation and anti-sense suppression of flavonoid 3', 5'-hydroxylase modifies flower pigments and colour in *Cyclamen* [J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 107.
- [11] DES MARAIS D L, RAUSHER M D. Parallel evolution at multiple levels in the origin of humming bird pollinated flowers in *Ipomoea* [J]. Evolution, 2010, 64(7): 2044-2054.
- [12] 贾赵东, 马佩勇, 边小峰, 等. 植物花青素合成代谢途径及其分子调控[J]. 西北植物学报, 2014, 34(7): 1496-1506.
- [13] BRUGLIERA F, REWELL G B, TIMOTHY A, et al. Isolation and characterization of a flavonoid 3'-hydroxylase cDNA clone corresponding to the *Ht1* locus of *Petunia hybrida* [J]. The Plant Journal, 1999, 19(4): 441-451.
- [14] YUAN Y, MA X H, SHI Y M, et al. Isolation and expression analysis of six putative structural genes involved in anthocyanin biosynthesis in *Tidipia fosteriana* [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 153(4): 93-102.
- [15] 杨玉霞, 孙菲菲, 张昌伟. 蝴蝶兰全长 cDNA 文库构建及 *F3'H* 基因克隆[J]. 西北植物学报, 2013, 33(9): 1731-1738.
- [16] LAI Y S, SHIMOYAMADA Y, NAKAYAMA M, et al. Pigment accumulation and transcription of *LhMYB12* and anthocyanin biosynthesis genes during flower development in the Asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.) [J]. Plant Science, 2012, 193-194: 136-147.
- [17] ZHAO D Q, TAO J, HAN C X, et al. Flower color diversity revealed by differential expression of flavonoid biosynthetic genes and flavonoid accumulation in herbaceous *peony* (*Paeonia lactiflora* Pall.) [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(12): 11263-11275.
- [18] ISHIGURO K, TANIGUCHI M, TANAKA Y. Functional analysis of *Antirrhinum kelloogii* flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3', 5'-hydroxylase genes; critical role in flower color and evolution in the genus *Antirrhinum* [J]. J Plant Res, 2012, 125(3): 451-456.
- [19] SCHLANGEN K, MIOSIC S, THILL J, et al. Cloning, functional expression, and characterization of a chalcone 3-hydroxylase from *Cosmos sulphureus* [J]. Journal of Experimental Botany, 2010b, 61(12): 3451-3459.
- [20] SCHLANGEN K, MIOSIC S, TOPUZ F, et al. Chalcone 3-hydroxylation is not a general property of flavonoid 3'-hydroxylase [J]. Plant Science, 2009, 177(2): 97-102.
- [21] NAKASUKAA A, MIZUTAB D, KII Y, et al. Isolation and expression analysis of flavonoid biosynthesis genes in evergreen *azalea* [J]. Scientia Horticulturae, 2008, 118(4): 314-320.
- [22] SEITZ C, EDER C, DEIM B, et al. Cloning, functional identification and sequence analysis of flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3', 5'-hydroxy-

- lase cDNAs reveals independent evolution of flavonoid 3',5'-hydroxylase in the Asteraceae family[J]. Plant Molecular Biology, 2006, 61(3): 365-381.
- [23] UEYAMA Y, SUZUKI K, MIZUTANI M F, et al. Molecular and biochemical characterization of *torenia* flavonoid 3'-hydroxylase and flavone synthase II and modification of flower color by modulating the expression of these genes[J]. Plant Sci, 2002, 163: 253-263.
- [24] YUAN Y, MA X H, TANG D Q, et al. Comparison of anthocyanin components, expression of anthocyanin biosynthetic structural genes, and *TfF3'H1* sequences between *Tulipa fosteriana* 'Albert heijn' and its reddish sport[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 175(15): 16-26.
- [25] HE H, HU K, HAN K T, et al. Flower colour modification of chrysanthemum by suppression of *F3'H* and overexpression of the exogenous *Senecio cruentus F3'5'H* gene[J]. Plos One, 2013, 8(11): e74395.
- [26] BRUGLIERA F, TAO G Q, TEMS U, et al. Violet-blue *Chrysanthemums*-metabolic engineering of anthocyanin biosynthetic pathway results in novel petal colours[J]. Plant and Cell Physiology, 2013, 54(10): 1696-1710.
- [27] TSUDA S, FUKUI Y, NAKAMURA N, et al. Flower color modification of *Petunia hybrida* commercial varieties by metabolic engineering[J]. Plant Biotechnol, 2004, 21(5): 377-386.
- [28] NAKAMURA N, MIZUTANI M F, FUKUI Y, et al. Generation of red flower varieties from blue *Torenia hybrida* by redirection of the flavonoid pathway from delphinidin to pelargonidin[J]. Plant Biotechnol, 2010, 27(5): 375-383.
- [29] HOSHINO A, MORITA Y, CHOI J D, et al. Spontaneous mutations of the flavonoid 3'-hydroxylase gene conferring reddish flowers in the three morning glory species[J]. Plant Cell Physiol, 2003, 44(10): 990-1001.
- [30] ZUFALL R A, RAUSHER M D. Genetic changes associated with floral adaptation restrict future evolutionary potential[J]. Nature, 2004, 428(22):

847-850.

- [31] MARTINS T R, BERG J J, BLINKA S, et al. Precise spatial temporal regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway leads to petal spot formation in *Clarkia gracilis* (Onagraceae)[J]. New Phytologist, 2013, 197(3): 958-969.
- [32] SHIN J, PARK E, CHOI G. PIF3 regulates anthocyanin biosynthesis in an HY5 dependent manner with both factors directly binding anthocyanin biosynthetic gene promoters in *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal, 2007, 49(6): 981-994.
- [33] LAITINEN R A E, AINASOJA M, BROHOLM S K, et al. Identification of target genes for a MYB-type anthocyanin regulator in *Gerbera hybrida*[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(13): 3691-3703.
- [34] NAJATSUKA T, SAITO M, YAMADA E, et al. Isolation and characterization of *GtMYBP3* and *GtMYBP4*, orthologues of *R2R3-MYB* transcription factors that regulate early flavonoid biosynthesis in gentian flowers[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(18): 6505-6517.
- [35] HAETMANN U, SAGASSER M, MEHRTENS F, et al. Differential combinatorial interactions of cis-acting elements recognized by R2R3-MYB, BZIP, and BHLH factors control light-responsive and tissue-specific activation of phenylpropanoid biosynthesis genes[J]. Plant Molecular Biology, 2005, 57(2): 155-171.
- [36] 胡可, 韩科厅, 戴思兰. 植物花青素合成与基因调控[J]. 植物学报, 2010, 45(3): 307-317.
- [37] DELA G, OR E, OVADIA R, et al. Changes in anthocyanin concentration and composition in 'Jaguar' rose flowers due to transient high-temperature conditions[J]. Plant Sci, 2003, 164(3): 333-340.
- [38] 侯杰, 佟玲, 崔国新, 等. 植物类黄酮 3'-羟化酶(*F3'H*)基因的研究进展[J]. 植物生理学报, 2011, 47(7): 641-647.

## Research Advances of Flavonoid 3'-Hydroxylase Gene in Ornamental Plant

DING Ling<sup>1,2</sup>, LI Chonghui<sup>1,3</sup>, HUANG Shaohua<sup>1,3</sup>, ZHANG Zhiqun<sup>1,3</sup>

(1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Ministry of Agriculture, Danzhou, Hainan 571737; 2. College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, Hainan 570100; 3. Hainan Engineering Technology Research Center of Tropical Ornamental Plant Germplasm Innovation and Utilization, Danzhou, Hainan 571737)

**Abstract:** Research progress in the molecular mechanisms of flavonoid 3'-hydroxylase gene (*F3'H*) regulating the color of ornamental plants in recent years were reviewed. The role of *F3'H* in the flavonoid biosynthetic pathway, the methods of gene isolation, cloning, identification, expression patterns and the impact of *F3'H* on floral color were summarized. Future research were proposed, in order to provide reference for further understanding of the molecular mechanism of *F3'H* gene and for desirable color breeding.

**Keywords:** floral color; ornamental plant; flavonoid 3'-hydroxylase gene; flavonoid