

一串红 (*Salvia splendens* Ker-Gawl) 的研究进展

李凤兰¹, 刘荣梅¹, 胡国富¹, 徐永清², 胡宝忠^{1*}

(1. 东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030; 2. 东北农业大学成栋学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 文章综述了一串红的研究进展, 着重阐述一串红的种子萌发、组织培养和一串红花萼苷生物合成途径及其相关基因克隆研究现状, 扼要地介绍了一串红花色基因的最新研究进展。

关键词: 一串红; 生物学特性; 种子萌发; 组织培养; 一串红花萼苷

中图分类号: S681.4; S330.2*1

文献标识码: A

一串红是庭园中栽培最广泛的草本花卉, 其植株矮壮, 花色鲜艳, 具有很高的观赏价值, 是我国节日传统用花。常用的红花品种, 其花萼、花冠的红艳色泽为其他花草所不及, 宜与浅色花卉配合布置。它是一种很好的抗污花卉, 对硫、氯的吸收能力强, 所以, 既是硫和氯的抗性植物, 又是二氧化硫、氯气的监测植物。全株均可入药, 有清热、凉血、消肿等功效。因此, 其栽培具有重要意义。

1 一串红的生物学特性

一串红 (*Salvia splendens* Ker-Gawl), 又名鼠尾草、西洋红、墙上红、爆竹红、撒尔维亚、草象牙红等。在系统分类上是唇形科 (Labiatae), 鼠尾草属 (*Salvia* L) 的植物。鼠尾草属 (*Salvia* L) 为唇形科的一个大属, 全世界约 1 000 种, 广布于热带、亚热带和温带。我国约 83 种、25 个变种、9 个变型, 分布于全国各地, 尤以西南最多。

一串红原产于南美巴西, 19 世纪初引入欧洲, 约 100 年前育出了早花矮性品种, 首先在法、意、德等国栽培, 至今仍为盆栽和切花生产的优良品种。广泛分布于温带及亚热带地区, 世界各地广为栽培, 在我国各地应用甚多。一串红为不耐寒多年生花卉, 性喜温暖、湿润及阳光充足的环境, 忌干热, 不耐寒, 忌霜害, 原为短日照植物, 经人工培育出中日和长日照品种。最适生长温度为

20~25 ℃, 10 ℃ 以下叶子变黄脱落, 高于 30 ℃ 则叶、花变小。适于排水良好、肥沃湿润土壤。花期 7~10 月。果熟期 10 月底, 坚果成熟后易脱落, 种子千粒重 3.738 g。种子寿命为 1~4 年。染色体 $x=10$, $2n=20$ 。

2 一串红种子萌发研究

一串红多采用播种繁殖, 种子用量很大, 由于一串红种子发芽率低, 自然发芽率只为 50% 左右, 发芽不整齐, 给种苗生产带来困难。国内对其种子发芽特性也有所研究。试验证明种子发芽率随成熟度的提高而提高, 通过 TTC 染色与发芽试验对比, 不同种子成熟度与种子活力和发芽率呈正相关^[1]。另一项研究表明一串红有浅休眠, 且种子休眠与胚后熟关系不大, 种子发芽率降低是由于受某些限制因子的影响, 属于强迫休眠, 种皮是一串红种子发芽的主要限制因子; 同时指出一串红种子休眠是种子个体现象, 而非群体现象^[2]。

为了提高种子的发芽率和繁殖率, 研究人员采取了很多措施, 主要是对一串红的种子在萌发前进行处理。有人研究浸种温度、浸种时间、不同浓度 KNO_3 溶液润湿发芽床对一串红种子发芽特性的影响, 认为浸种温度对种子的发芽率、发芽势及发芽的指数有极显著影响, 而浸种时间及不同浓度 KNO_3 溶液润湿发芽床对一串红种子的发芽影响不大^[3]。刘燕等尝试了用超低温保存的方法来提髙一串红种子的萌发率, 但试验结果证明此方法反而降低了其发芽率^[4]。另有报道指出, 使用外源激素处理一串红的种子, 结果证明, 不同浓度的 ABA 对

收稿日期: 2007-01-05

作者简介: 李凤兰(1973-), 女, 黑龙江人, 博士研究生, 讲师, 主要从事观赏植物的生殖生物学及分子生物学研究。

* 通讯作者 E-mail: bzhu@neau.edu.cn

种子的发芽率影响不大, GA₃ 与 ABA 共同处理使发芽率稍有上升^[2]。

3 一串红组织培养研究

在一串红的组织培养方面多数报道针对矮生一串红。原因在于矮生一串红结籽对温度要求较高, 结籽率、发芽率低, 而且其扦插不易生根, 成活率低。赖钟雄等使用带腋芽的幼嫩茎段作为外植体, 以 MS 作为基本培养基, 添加不同浓度的 NAA 和 BA 进行培养, 结果发现以附加了 1.5 mg·L⁻¹ BA 和 0.1 mg·L⁻¹ NAA 的 MS 固体培养基最利于茎段腋芽的萌发, 在芽苗增殖时, 从增殖系数和芽苗质量两方面因素考虑, 2.0 mg·L⁻¹ BA 的效果最佳, 并且增殖系数达到 4.18, 且芽苗质量好, 生根时采用附加 1.5 mg·L⁻¹ NAA 的 MS 培养基, 可起到好的效果, 该培养过程不经过愈伤组织阶段, 有利于保持品种的稳定性^[9]。宋洪文也采用带有侧芽的嫩茎段作为外植体进行了一串红的组织培养, 对一串红及其变种的组织培养未见报道^[6]。本实验室对 8 种不同花色的一串红进行的组织培养试验中, 确定了一串红组织培养的最佳外植体为带腋芽的茎段, 茎段的芽丛诱导最佳培养基为 1/2 MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹ +6-BA 2.0 mg·L⁻¹ +IBA 0.5 mg·L⁻¹, 其分化率为 71.4%, 芽增殖率为 140.6%; 最佳生根培养基为 1/4 MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹, 生根率为 91.6%^[7]。

4 一串红花葵苷的研究

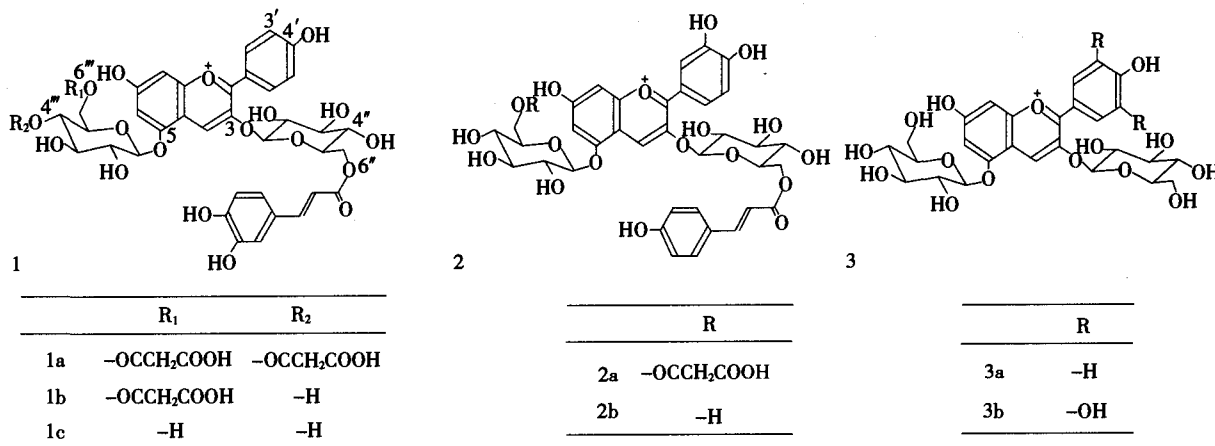
一串红花葵苷(Savlinin)是一串红中的主要色素, 为一种花色素苷, 经 ICMS 分析估计, 在其花瓣中, 一串红花葵苷占 52%, 在花萼中为 50%。同时, 一串红属多年生草本植物, 只要温度适宜, 几乎可常年开花, 每季可摘多茬, 产花量大, 提供了大量的色素资源。对一串红色素提取方法工艺及其性质的研究报道很多。大多数报道认为, 以添加一定量盐酸(一般为 0.1 mol·L⁻¹)的乙醇溶液为提取剂提取效果很好, 且提取方法较简单, 成本低廉, 无污染, 安全性高, 易于推广。王海棠等试验表明, 该色素在酸性条件下比较稳定, 色泽鲜艳悦目, 但在强酸中出现沉淀, 在碱性条件下变为棕色或黄色, 表明此色素适于中性和弱酸性条件下使用, 可用于酸性糖果及饮料等副食品的着色^[8]。梁淑芳等测试了一串红红色素的性能, 也认为其在

酸性条件具有较强的热稳定性和耐光性^[9]。郑永军等研究了红色素的化学本质、食品基质及添加剂对其稳定性的影响, 研究表明食品基质对色素的稳定性没有影响, 并且防腐剂对该色素的稳定性影响不大; 通过小鼠急性毒性试验, 证明了红色素的毒性极低, 还可作为食用色素^[10]。食用色素是食品添加剂的重要组成部分, 它不仅用于食品工业来改善食品色泽, 给予人们一种赏心悦目的美感, 而且还广泛用于医药卫生、日用化工产品、化妆品等。食用色素用量甚微, 在食品的总质量评价中色泽评分约占 45%, 有极其广泛的应用价值^[11]。从红色花中提取出红色素, 水溶性好, 具有天然的芬芳气味, 是一种很有开发潜力的色素资源。但对于其植物色素系统研究和开发利用尚无报导^[12]。原因是植物不同色彩的花色苷一般不稳定, 并受多种因素影响, 因而限制了它作为食品着色剂在食品加工业中的应用^[13]。

5 一串红色素苷的生物合成途径及相关基因的克隆

花的颜色是一种复杂性状, 主要由类黄酮、类胡萝卜素、生物碱三类物质决定^[14]。类黄酮色素是液泡色素, 包括花色素和花黄素等, 主要存在于液泡中, 类黄酮的不同色素在液泡中积累产生各种花色, 同时色素的组成和浓度的不同也是出现各色花色的原因。花色素一般使花呈现桔红至深红色, 或从蓝色到紫色; 花黄素主要使花呈白色至深黄色。花黄素类胡萝卜素为质粒色素, 包括胡萝卜素和叶黄素, 主要包括黄色、橙色和红色色素在内的一系列色素^[15]。生物碱在含花青素的植物中尚未发现。而是存在于藜目植物内, 主要包括甜菜素、小檗碱和罂粟碱等^[16]。

自然界中, 花表现出红色至蓝色, 主要是由花色素苷(Anthocyanins)所决定的。一串红花中的红色也主要是由花色素苷所决定, 主要是一串红花葵苷(Savlinin), 同时还含有单丙二酰一串红花葵苷、3-(香豆酸-β-吡喃型葡萄糖苷)-5-(双丙二酰-β-吡喃型葡萄糖苷)-花葵素、3-(香豆酸-β-吡喃型葡萄糖苷)-5-(丙二酰-β-吡喃型葡萄糖苷)-花葵素(结构见图 1), 一串红花的花瓣与花萼之所以能表现为红色, 主要是花色素苷作用的结果^[17]。



1—一串红花葵苷；2—Shisonin；3—相关花色苷的结构

色素的名字分别为：1a—一串红花葵苷；1b—单丙二酰一串红花葵苷；1c—双丙二酰一串红花葵苷；

2a—丙二酰 Shisonin；2b—Shinsonin；3a—3, 5-葡萄糖苷花葵素；3b—3, 5-葡萄糖苷翠雀素

1—Salvianin；2—Shisonin；3—Relative anthocyanin structure

Names of anthocyanins are: 1a—Salvianin；1b—Monodemalonyl salvianin；1c—Bisdemalonyl salvianin；2a—Malonyl shisonin；

2b—Shinsonin；3a—Pelargonidin 3, 5-Diglucoside；3b—Delphinidin 3, 5-Diglucoside

图 1 一串红中色素的结构

Fig. 1 Structures of anthocyanins in *Salvia splendens*

对于一串红花葵苷的生物合成已有研究，其合成的过程大体如图 2 所示，可分为以下几个阶段^[10]：

第一阶段是花色苷的合成，以丙二酰 -CoA 和对香豆酰 -CoA (P-coumaroyl-CoA) 为合成前体，在查尔酮合成酶 (Chalcone Synthase, CHS) 的作用下形成黄色的苯基乙烯酮 (又称查尔酮, Chalcones)，然后查尔酮在查尔酮 - 黄酮酮异构酶 (Chalcone-Flavanone Isomerase, CHI) 催化下进行异构化，或者自发形成无色的黄烷酮 (Flavanone)。

第二阶段黄烷酮在黄烷酮羟基化酶 (Flavanone-3-hydroxylase, F3H) 催化下形成无色二氢黄酮醇。

第三阶段是花色苷的形成，从二氢黄酮醇转变成花色苷的过程很复杂。其中所需要的酶也很多，精确的反应机理尚未弄清。现在已知参与该过

程的酶有二氢黄酮醇 -4- 还原酶 (DFR)，也是二氢黄酮醇转变成花色苷的第一个酶。花色苷合成酶 (AS) 可能催化无色花色苷转变为花色苷；另一个酶为类黄酮 -3-O- 葡萄糖基转移酶 (UF3GT)，它在不稳定花色苷进一步糖苷化，转变成稳定花色苷过程中起了重要的作用。

第四个阶段是一串花葵苷的形成过程 (可能过程)，生物合成早期阶段形成的 3- 氧基葡萄糖苷花葵素，经 5- 葡萄糖苷基化和 6''- 酰基化作用，可能通过“代谢栅栏”作用获得了一个咖啡基，产物二丙二酰一串红花葵苷，通过丙酰转移酶 Ss5MaT1 的催化，在 6' 位置上进行第一个丙二酰基化，通过另一个丙酰转移酶 (形式为 Ss5MaT2) 催化在 4' 处进行第二个丙二酰基化作用，最终生成了一串红花葵苷。

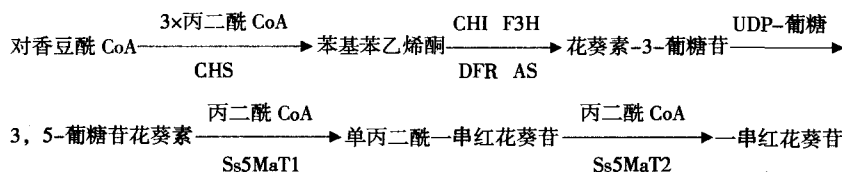


图 2 一串红花葵苷的生物合成途径

Fig. 2 Biosynthesis pathway of salvianin

Suzuki 等对一串红花葵苷形成过程中的丙二酰转移酶进行了研究。在一串红花的粗提物中, 他们研究了两种截然不同的丙二酰转移酶的活性, 一种(表示为 Ss5MaT1)促进二丙二酰一串红花葵苷的单酰基化作用(见图 1, 1c)(只是第一个丙二酰化), 而另一种(表示为 Ss5MaT2)促进第一个丙二酰反应的产物进一步丙二酰基化而生成一串红花葵苷(两个丙二酰基化)^[10]。一串红花葵苷形成过程中的 Ss5MaT1 已被分离、鉴定和基因克隆。其高效的活动在已经开放的花朵中很常见, 被纯化的 SsTMaT1 天然分子团估计为 46 ku, 这表明酶以单体存在, 其 cDNA 编码了一个 462 个氨基酸的蛋白质。

植物通用酰基转移酶(VPAT)家族是一个最近才被认识的蛋白质家族, 该家族是由参与包括花青物质产生和花青素生物合成在内的植物次级代谢过程的酶组成^[16], 这些酶存在于大部分同源植物的次级代谢过程中。虽然该家族成员普遍存在两个高度保守的序列, 但其成员中的整体氨基酸序列间却存在较低的同源性(20%~40%)。一串红中的丙二酰基辅酶 A: 5-氧葡萄糖苷花青素 6'''-氧丙二酰转移酶(Ss5MaT1)是该家族的成员, 它可催化丙二酰基特异性地从丙二酰基辅酶 A 转移到花青素中 5 糖基中 6'''-羟基上, 进而形成一串红色素苷, 使一串红花呈现出红色。该酶中有植物通用酰基转移酶家族中的两个高度保守序列 -His-Xaa3-Asp-和 -Asp-Phe-Gly-Trp-Gly-, 它们对该酶的催化作用具有重要意义^[17]。试验证明, 花色素的酰基化在色素的稳定性和移动性中起作用, 因此, 认为花色素酰基转移酶基因可成为通过生物工程手段控制花色的关键工具。本实验室已对该基因的多态性进行了研究, 经测序发现在 8 种不同花色的一串红花中都存在此结构基因, 其同源性相当高, 在干红色、绯红色、白色、红白双色、浅紫色、紫色中, 该基因序列完全相同, 只是在鲑鱼肉色花和玫瑰红色两种花色中, 此基因出现了一个点突变, 在玫瑰红色花中的点突变导致异亮氨酸(Ile)突变为苏氨酸(Thr), 而鲑鱼肉色花中的点突变导致缬氨酸(Val)突变成丙氨酸(Ala), 这些氨基酸的突变是否导致花色变化, 还有待进一步研究。此外, 由于 Ss5MaT1 酶只以花青素充当底物, 主要是由于花青素中 3-葡萄糖基上芳香酰基的存在, 但是此酶不能催化花葵素和翠雀素的 3, 5-二糖苷的丙二酰基化作用,

因此在紫色花中, 因缺少此酶的催化底物而不能发挥作用。

综上所述, 一串红的研究尚停留在基础水平, 还有许多问题需要解决, 如色素的工业化使用, 组织培养苗的大力推广等。其中最重要的是花色的增加, 因为一串红颜色比较单一, 只有红色系、白色系和紫色系等, 如果要提高一串红的园林利用价值, 就必须创造出新的花色, 但从自然变异或人工诱导的变异植株中筛选, 或通过具有优良性状的植株杂交等方式来获得新的花色品种, 面临许多难以克服的障碍, 如变异频率不高、杂交不亲和、育种周期长以及盲目性大等问题。因此, 找到一种快速而有效的方法来获得新的花色品种, 这已成为最为紧迫的问题。

[参 考 文 献]

- [1] 曾丽, 赵梁军, 苏立峰. 一串红种子发育及内含物对种子萌发的影响[J]. 中国农业大学学报, 2000, 5(1): 35-38.
- [2] 曾丽, 赵梁军. 赤霉素与脱落酸对一串红种子休眠及发芽的影响[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2001, 19(4): 276-278.
- [3] 王少平. 一串红种子发芽特性研究[J]. 北方园艺, 2000, 132(3): 33-34.
- [4] 刘燕, 周慧, 方标. 园林花卉种子超低温保存研究[J]. 北京林业大学学报, 2001, 23(4): 39-44.
- [5] 赖钟雄, 赖呈纯, 颜鸿伟. 矮秆一串红离体培养快繁技术[J]. 福建农业大学学报, 2001, 30(4): 483-485.
- [6] 宋洪文. 矮一串红的微型繁殖[J]. 中国林副特产, 2002, 60(1): 46.
- [7] 李凤兰, 胡国富, 胡宝忠. 八种不同花色一串红组织培养快繁的研究[J]. 生物技术, 2005, 15(4): 71-73.
- [8] 王海棠, 张玉清. 一串红色素提取工艺及其性质[J]. 食品科学, 1993, 168(12): 27-29.
- [9] 梁淑芳, 马柏林, 丁克廉. 一串红色素的提取及其性能测试[J]. 化学世界, 1994(1): 39-41.
- [10] 郑永军, 焉翠蔚, 刘艾林, 等. 一串红天然红色素的研究[J]. 食品工业科技, 1997(6): 37-38.
- [11] 彭子模, 吕海英, 刘玉祥, 等. 榆叶梅天然色素及其稳定性研究[J]. 生物技术, 2001, 11(3): 26-29.
- [12] 彭子模, 程伟, 刘晓云. 一串红红色素提取方法的研究[J]. 中国林副特产, 2002, 62(3): 42-43.
- [13] 陈斌, 谷伏安, 于华忠. 天然食用色素的生产现状与研究进展[J]. 广州食品工业科技, 1998(3): 35-37.

- [14] Tanaka Y, Tsuda S, Kusumi T. Metabolic engineering to modify flower color[J]. *Plant Cell Physiology*, 1998, 39(11): 1119-1126.
- [15] Teynor T M, Ascher P D, Widmer R E, et al. Inheritance of flower color in *Den-dranthema grandiflora* Tzve lev (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) using cultivars and inbreds .I. Plastid pigmentation[J]. *Euphytica*, 1989, 42: 199-207.
- [16] 郑志亮. 花卉作物的花色基因工程[J]. 北方园艺, 1994, 96(3): 37-38.
- [17] Suzuki H, Nakayama T, Nishino T. Proposed mechanism and functional amino acid residues of malonyl-CoA:Anthocyanin 5-O-Glucoside -6"-O-Malonyltransferase from flowers of *Salvia splendens*, a member of the versatile plant acyl-transferase family[J]. *Biochemistry*, 2003, 42: 1764-1771.
- [18] Suzuki H, Nakayama T, Yonekura-Sakakibara K, et al. cDNA cloning heterologous expressions and functional characterization of Malonyl-coenzyme A: Anthocyanidin-3-O- Glucoside-6"-O-Malonyltransferase from Dahlia flowers[J]. *Plant Physiol*, 2002, 130: 2142-2151.

Research advance of *Salvia splendens*

LI Fenglan¹, LIU Rongmei¹, HU Guofu¹, XU Yongqing², HU Baozhong¹

(1. College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. College of Chengdong, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The research advance of *Salvia splendens* was reviewed in this paper. The primarily expatiated research status of seed germination, the tissue culture and biosynthetic process of savlinin and cloning of relating gene and the newest research progress of the flower color gene in *Salvia splendens* was primarily discussed.

Key words: *Salvia splendens*; biological characteristic; seed germination; tissue culture; savlinin