

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201808015

朱家红, 夏栋楠, 王颖, 等. 海南龙血树 WD40 转录因子基因 *DcWD40-1* 的克隆和表达分析 [J]. 广西植物, 2020, 40(1): 136–142.  
ZHU JH, XIA DN, WANG Y, et al. Cloning and expression analysis of WD40 transcription factor *DcWD40-1* from *Dracaena cambodiana* [J]. *Guihaia*, 2020, 40(1): 136–142.

## 海南龙血树 WD40 转录因子基因 *DcWD40-1* 的克隆和表达分析

朱家红<sup>1</sup>, 夏栋楠<sup>2</sup>, 王颖<sup>1</sup>, 郭冬<sup>1</sup>, 李辉亮<sup>1</sup>, 梅文莉<sup>1</sup>, 彭世清<sup>1\*</sup>

( 1. 中国热带农业科学院热带作物生物技术研究所, 海口 571101; 2. 海南大学 热带农林学院, 海口 570228 )

**摘要:** 海南龙血树是国产血竭的主要基源植物, 其血竭主要化学成分为类黄酮化合物。为进一步了解 *DcWD40-1* 在类黄酮生物合成中的潜在功能和作用机制, 该研究根据海南龙血树转录组数据, 利用 RT-PCR 技术在海南龙血树中克隆了一个 WD40 基因 *DcWD40-1*, 该基因全长 1 550 bp, 包含一个 1 353 bp 的开放阅读框, 编码 450 个氨基酸, 蛋白质分子量 50.77 kD, 理论等电点 5.71。生物信息学分析显示, *DcWD40-1* 属于 WD40 蛋白家族成员, 具有 5 个保守的 WD40 结构域, 和其他植物 WD40 蛋白同源性高, 保守性强。利用 Genome Walking 方法分离了 1 503 bp 的 *DcWD40-1* 启动子序列, 该区域具有典型真核生物启动子结构特征, 并含有多个应答激素和胁迫的响应元件。表达分析显示, 血竭诱导剂能够诱导 *DcWD40-1* 的表达, *DcWD40-1* 的变化与血竭形成及类黄酮积累正相关。此外, *DcWD40-1* 也能对茉莉酸甲酯、细胞分裂素、油菜素内酯和 UV-B 处理做出积极响应。

**关键词:** 海南龙血树, 血竭, 类黄酮, WD40 转录因子, 基因表达

中图分类号: Q949.45 文献标识码: A

文章编号: 1000-3142(2020)01-0136-07

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Cloning and expression analysis of WD40 transcription factor gene *DcWD40-1* from *Dracaena cambodiana*

ZHU Jiahong<sup>1</sup>, XIA Dongnan<sup>2</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>, GUO Dong<sup>1</sup>,  
LI Huiliang<sup>1</sup>, MEI Wenli<sup>1</sup>, PENG Shiqing<sup>1\*</sup>

( 1. Institute of Tropical Biosciences and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China )

**Abstract:** Hainan Dragon trees (*Dracaena cambodiana*) are the main plant resources of dragon's blood in China, and the main chemical constituents of the dragon's blood are flavonoids. The recent studies about dragon's blood mainly focus on the chemical constituents and pharmacological activities, while the molecular mechanisms of dragon's blood for-

收稿日期: 2019-04-18

基金项目: 海南省自然科学基金(318MS093); 国家自然科学基金(81773845) [ Supported by Natural Science Foundation of Hainan Province (318MS093); the National Natural Science Foundation of China (81773845) ]。

作者简介: 朱家红(1982-), 男, 安徽颍上人, 博士, 副研究员, 主要从事植物次生代谢物形成与调控, (E-mail) hjzhu1010@163.com。

\* 通信作者: 彭世清, 博士, 研究员, 主要从事植物次生代谢物形成与调控, (E-mail) sqpeng@163.com。

mation remain unknown. WD40 transcription factor plays an important role in flavonoid accumulation. In this study, a WD40 gene named *DcWD40-1* was cloned in *Dracaena cambodiana* based on transcriptome data and RT-PCR technology. The full-length of cDNA of *DcWD40-1* was 1 550 bp, containing 1 353 bp opening reading frame (ORF), and encoding 450 amino acids with the calculated molecular weight of 50.77 kD and calculated pI 5.71. Bioinformatics analysis showed that *DcWD40-1* belonged to a member of WD40 superfamily, had five conserved WD40 domains, and shared high identities to WD40 proteins with other plants. A 1 503 bp-length promoter region of *DcWD40-1* was isolated by Genome Walking method, which had structural characteristics of typical eukaryotic promoters. The promoter region of *DcWD40-1* contained lots of hormone responsible elements, such as abscisic acid-responsive element, auxin-responsive element, salicylic acid-responsive element and jasmonic acid-responsive element; also had many cis acting elements related stress such as light, cold, hot and anaerobic inducer. Expression analysis showed that *DcWD40-1* was induced by dragon's blood inducers, positively related to flavonoids accumulation and formation of dragon's blood. In addition, *DcWD40-1* can also respond positively to jasmonic acid, cytokinin, brassinosteroid and UV-B treatment. These results will lay the foundation for further study of the potential functions and mechanisms of *DcWD40-1* in flavonoid biosynthesis in *Dracaena cambodiana*.

**Key words:** *Dracaena cambodiana*, dragon's blood, flavonoids, WD40 transcription factor, gene expression

血竭是一种传统名贵中药,具有活血化瘀、消炎镇痛和止血生肌等功效 (Gupta et al., 2008; Wang et al., 2011)。海南龙血树 (*Dracaena cambodiana*) 是国产血竭的基源植物 (郑道君等, 2009; Wang et al., 2013)。前期研究表明海南龙血树血竭中的主要化学成分以类黄酮化合物为主 (Chen et al., 2012; Zheng et al., 2012; Wang et al., 2017)。海南龙血树及其血竭中的类黄酮化合物具有多种生物学活性,如抗癌、抗肿瘤、抗炎、抗真菌、凝血酶抑制和抗增殖活性等 (Luo et al., 2011; Mei et al., 2013; Wang et al., 2017)。目前,人们对血竭的化学成分、药理活性及临床应用的研究较多,但对类黄酮积累和血竭形成机制并不了解 (Zhu et al., 2016)。

植物类黄酮生物合成主要受结构基因(编码类黄酮生物合成的各种酶类)和调节基因(转录因子)的控制 (Tohge et al., 2017)。WD40 转录因子可与 MYB 和 bHLH 转录因子互作形成 MBW 复合体协同调控多个结构基因的表达,参与类黄酮的生物合成 (Xu et al., 2015)。WD40 蛋白是真核生物中普遍存在的蛋白家族之一,在进化中高度保守,通常含有多个由 40~60 个氨基酸残基组成的 WD40 重复基序 (Xu & Min, 2011)。目前参与类黄酮合成相关的 WD40 基因已在多种植物中得到分离与鉴定,如拟南 *TTG1* (Baudry et al., 2004)、苹果 *MdTTG1* (An et al., 2012)、杨梅 *MrWD40-1* (Liu et al., 2013)、柿 *DkWDR1* (Naval et al.,

2016)、石榴 *PgWD40* (Bensimhon et al., 2011)、苦荞麦 *FtWD40* (Yao et al., 2017)、西红柿 *SIAN11* (Gao et al., 2018),但在海南龙血树中还未见 WD40 类转录因子的报道。

在先前的研究中,项目组采用“无机盐诱导剂输液法”专利技术对海南龙血树进行诱导产生了血竭,并对血竭的成分及诱导前后的转录组数据进行了分析,推导出类黄酮生物合成途径,并筛选获得一条编码 WD40 的基因,推测其可能在类黄酮生物合成过程中具有调控作用 (Zhu et al., 2016)。本研究将在此基础上对该基因进行克隆,并分析其时空表达特征,为研究其在类黄酮生物合成中的潜在功能和作用机制奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

实验所需的植物材料海南龙血树种植于中国热带农业科学院生物技术研究所内。使用 10% 血竭诱导剂通过输液的方法注射海南龙血树茎部,处理后 0、3、6 d 取样,具体参考 Zhu et al. (2016); 选取生长一致的组培苗移置于液体培养基中 7 d 后进行胁迫紫外辐射胁迫 (UV-B) 处理和叶片喷施 200  $\mu\text{m} \cdot \text{L}^{-1}$  茉莉酸 (MeJA)、脱落酸 (ABA)、细胞分裂素 (CTK) 和油菜素内酯 (BR) 处理,处理 0、3、12、24 h 后取样。所有样品采集后,液氮速冻,于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

## 1.2 核酸提取及 cDNA 合成

总 RNA 和 DNA 按照成都福际生物技术有限公司 (FOREGENE) 的 Plant Total RNA Isolation Kit 试剂盒和 Plant DNA Isolation Kit 提取。总 RNA 按照江苏愚公生命科技有限公司 (NOVA<sup>®</sup> Yugong Biolabs) 的 All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with DNase I) 试剂盒的方法反转录为 cDNA。

## 1.3 *DcWD40-1* 的基因及启动子克隆

根据海南龙血树转录组数据中 WD40 的 EST 序列,设计 5' 端特异引物 WD40F: 5'-CTACAAATTCATGTGAGCGG-3' 和 3' 端引物 WD40R: 5'-CGGCAGCTCAGCTGCCTACAG-3', 分别以 cDNA 为模板对 *DcWD40-1* 进行扩增。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定,回收目的条带与 pMD19-T 载体连接并转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ , 通过菌落 PCR 鉴定阳性克隆,送诺赛基因公司测序。利用 ExPASy 在线软件 (<https://www.expasy.org/>) 分析预测蛋白的氨基酸组成、分子式、分子量和等电点;利用 PSORT (<http://psort1.hgc.jp/form.html>) 预测亚细胞定位;利用 DNAMAN 软件进行氨基酸序列比对分析。

利用 Clontech 公司的 Universal Genome Walker 2.0 Kit 对 *DcWD40-1* 的启动子进行克隆。将基因组 DNA 经 *EcoRV*、*Stu I*、*Pvu II* 和 *Dra I* 4 种内切酶酶切后,在 T4 连接酶作用下与接头连接。以连接产物为模板,采用接头引物 (AP1 和 AP2, 试剂盒提供) 和基因特异引物 (PWD: 5'-TGGAGGTGCTGGGTATTTTCG-3'; PWD2: 5'-GATACTCGTTGCTGGATTATAGGA-3') 进行两轮 PCR 扩增。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定,回收目的条带与 pMD19-T 载体连接并转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ , 通过菌落 PCR 鉴定阳性克隆,送诺赛基因公司测序。利用在线工具 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行启动子元件分析。

## 1.4 基因表达分析

利用 SYBR<sup>®</sup> Select Master Mix 试剂盒在 Mx3005P Real-Time PCR System 上进行 qPCR 分析。内参基因为 *Actin*, 引物序列为 qDcACT-F (5'-ACCGAGAGAGGGTACTCATT-3'), qDcACT-R (5'-CCAGCTCCTGCTCGTAATC-3'); 目的基因引物 qWD1-F (5'-GAATGGAGGTGGTGGTATTT-3') 和 qWD1-R (5'-TTTGTGGATGGAGGAGAGAGA-3')。

qPCR 反应体积 20  $\mu$ L: 10  $\mu$ L 2 $\times$ SYBR mix, 正反向引物各 1  $\mu$ L (10  $\mu$ m $\cdot$ L<sup>-1</sup>), 1  $\mu$ L cDNA 模板, 7  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O。qPCR 反应条件: 95  $^{\circ}$ C 10 min; 95  $^{\circ}$ C 15 s, 60  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s, 40 个循环。采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>t</sub></sup> 法分析基因的相对表达量。

## 2 结果与分析

### 2.1 *DcWD40-1* 的克隆

根据在海南龙血树转录组数据中获得的 WD40 基因的 EST 序列,设计特异引物对该基因的全长序列进行扩增,获得一条 1 500 bp 左右的特异条带。将目的片段连接到 T 载体上进行测序,测序结果与通过转录组测序得到结果一致,将该基因命名为 *DcWD40-1*。本研究获得的 *DcWD40-1* 基因全长 1 550 bp, 包含一个 1 353 bp 完整的开放阅读框。

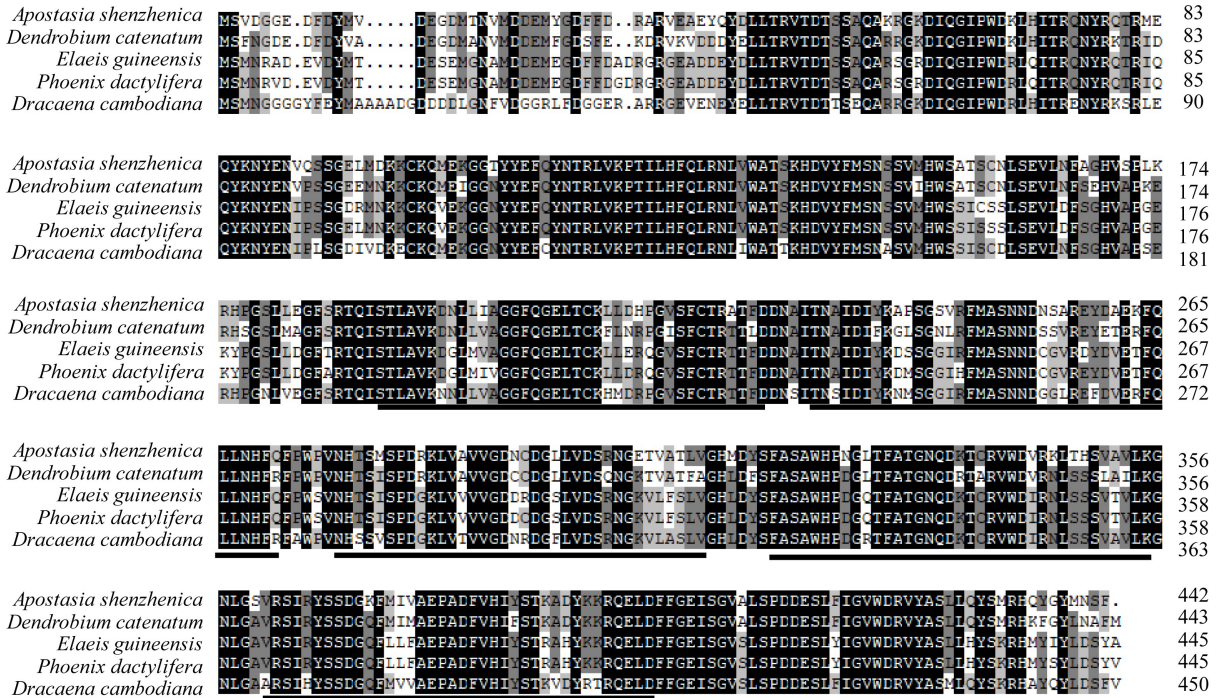
### 2.2 *DcWD40-1* 的分子特征

*DcWD40-1* 编码蛋白由 450 个氨基酸组成,其中甘氨酸 (Gly) 和丝氨酸 (Ser) 最多,有 40 个,占比达到 8.9%。*DcWD40-1* 蛋白分子式为 C<sub>2238</sub>H<sub>3412</sub>N<sub>634</sub>O<sub>689</sub>S<sub>17</sub>, 预测分子量为 50.77 kD, 理论等电点 5.71。亚细胞定位预测显示 *DcWD40-1* 定位于微体中可能性最大,达到 71.4%。氨基酸序列分析发现,*DcWD40-1* 具有植物 WD40 转录因子的结构特征,包含 5 个 WD40 重复基序。*DcWD40-1* 的氨基酸序列与海枣 (*Phoenix dactylifera*)、油棕 (*Elaeis guineensis*)、深圳拟兰 (*Apostasia shenzhenica*) 和铁皮石斛 (*Dendrobium catenatum*) 中相应 WD40 氨基酸序列的同源性分别为 77.1%、76.9%、75.6% 和 74.9%。

### 2.3 *DcWD40-1* 启动子的克隆和序列分析

利用 Genome Walking 方法分离了 *DcWD40-1* 启动子区 1 503 bp, 该区域具有典型真核生物启动子结构特征,包含多个 TATA-box、CAAT-box 等基本元件。此外,该启动子序列中含有细胞分裂素响应元件 CMRs、脱落酸相应元件 ABRE、生长素响应元件 TGA-box、水杨酸响应元件 TCA-element 和茉莉酸响应元件 CGTCA-motif 等激素响应元件;还有防卫和胁迫响应元件 TC-rich repeat、厌氧诱导元件激发子响应元件 ARE、热激响应元件 HSE 和低温响应元件 LTR 以及多个光相应元件,如 3-AF1 binding site、ATCC-motif、ATCT-motif、Box I、GA-





划线处为 WD40 基序。

The conserved WD40 domains are underlined.

图 1 *DcWD40-1* 与其他植物 WD40 蛋白氨基酸序列比对  
Fig.1 Alignment of *DcWD40-1* and other WD40s form other plants

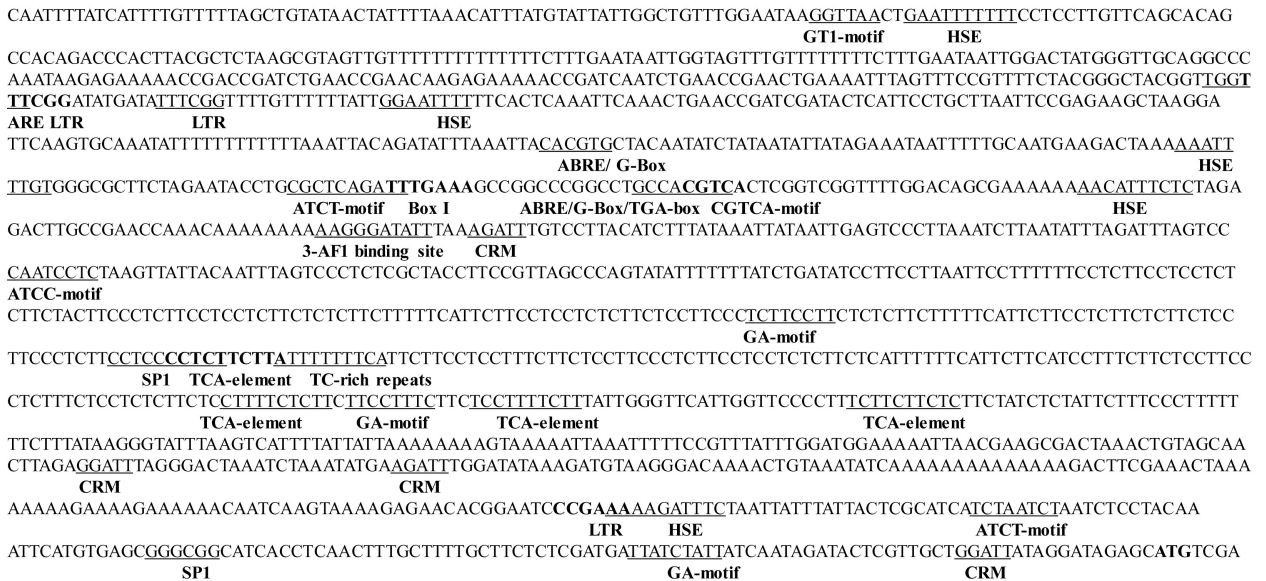
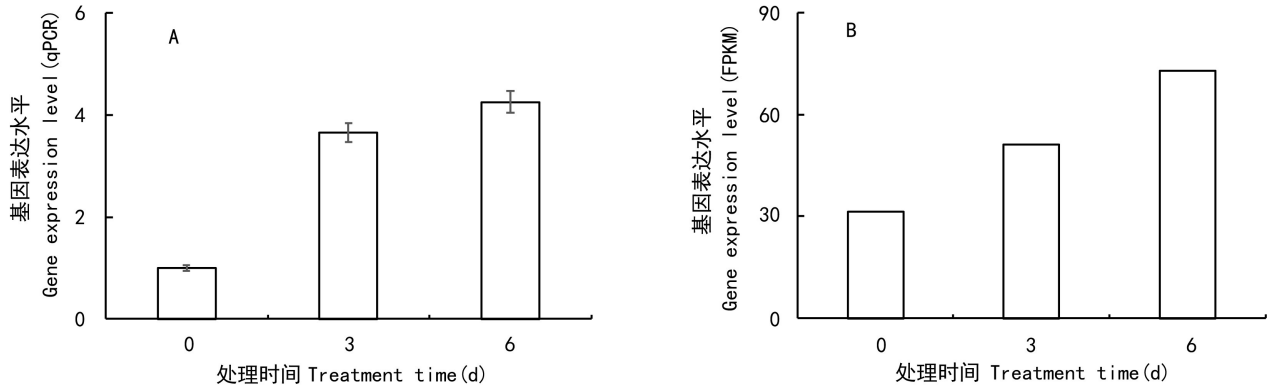


图 2 *DcWD40-1* 启动子序列及主要调控元件  
Fig. 2 Promoter sequence of *DcWD40-1* and main regulatory elements

motif、G-box SP1、GT1-motif 等。这说明上述这些激素和胁迫可能影响 *DcWD40-1* 的转录水平。

**2.4 *DcWD40-1* 在血竭诱导剂处理下的表达**  
无机盐能够诱导血竭的产生,并上调类黄酮

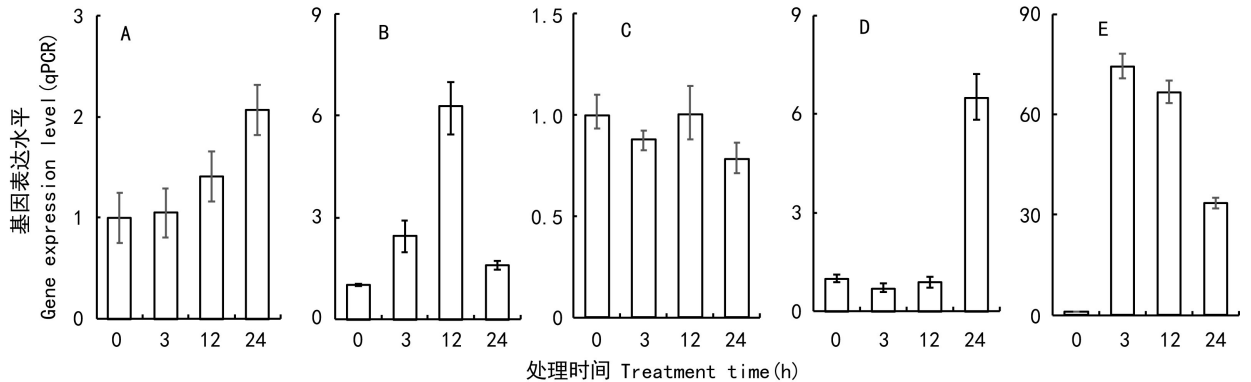


A. 以 qPCR 为基础的表达分析; B. 以 FPKM 值为基础的表达分析。

A. Expression analysis based on qPCR; B. Expression analysis based on FPKM values.

图 3 *DcWD40-1* 在血竭诱导剂处理下的表达

Fig. 3 Expressions of *DcWD40-1* in response to the inducer of dragon's blood



A. MeJA 处理; B. CTK 处理; C. ABA 处理; D. BR 处理; E. UV-B 处理。

A. MeJA treatment; B. CTK treatment; C. ABA treatment; D. BR treatment; E. UV-B treatment.

图 4 *DcWD40-1* 在不同胁迫处理下的表达

Fig. 4 Expressions of *DcWD40-1* under different stress treatments

积累相关基因的表达,因此检测了 *DcWD40-1* 在无机盐处理下的表达特征。定量 PCR 结果显示,在无机盐诱导 3 d 和 6 d 后, *DcWD40-1* 的表达量分别上调 1.6 倍和 2.5 倍(图 3:A);在先前的转录组数据中,无机盐诱导 3 d 和 6 d 后, *DcWD40-1* 的 RPKM 值比对照分别提高 3.6 倍和 6.8 倍(图 3:B)。上述结果说明血竭诱导剂能够诱导 *DcWD40-1* 的表达。

### 2.5 *DcWD40-1* 在胁迫处理下的表达

植物激素和光照在类黄酮次生代谢物形成中具有重要的调控作用,因此检测了 *DcWD40-1* 对激素 MeJA、CTK、ABA、和 BR,以及 UV-B 胁迫的响应特征。qPCR 结果显示,除了 ABA 外(图 4:C),其

他 5 种处理均能诱导 *DcWD40-1* 的表达,其中 MeJA 和 BR 处理下,表达最高点均在处理后 24 h,分别是正常水平的 2.1 倍和 6.5 倍(图 4:A, D); CTK 处理下,表达最大值是处理后 12 h,上调 6.2 倍(图 4:B); *DcWD40-1* 对 UV-B 响应积极,处理后 3 h 表达量就达到高点,是对照的 74.5 倍(图 4:E)。

## 3 讨论

WD40 重复蛋白是一类古老的蛋白家族,结构高度保守,其广泛参与植物的生长发育过程,如信号转导,细胞分裂、基因表达调节、蛋白质泛素化、

组蛋白甲基化、基因组稳定性以及细胞周期调控等过程 (Xu & Min, 2011)。已有研究发现 WD40 蛋白与植物类黄酮积累量密切相关 (Xu et al., 2015)。首个参与类黄酮代谢调控的 WD40 基因是矮牵牛 *PhAN11* (De et al., 1997), 随后在多个植物中鉴定了类黄酮合成相关的 WD40 类转录因子。WD40 蛋白通常与 MYB 和 bHLH 转录因子互作形成 MBW 复合体协同调控类黄酮生物合成。在 MBW 转录复合体中, 具有 DNA 结合特性的为 MYB 和 bHLH 成员。WD40 转录因子大多没有可以识别的顺式作用元件, 也没有任何催化活性, 其功能在于稳定蛋白互作, 增强伙伴的基因活性 (Xu et al., 2014, 2015)。WD40 转录因子虽然不能直接调控类黄酮合成结构基因的表达, 但已在多种植物中证实通过表达 WD40 基因能显著提高转基因植株中的类黄酮含量 (Yao et al., 2017; Gao et al., 2018), 这说明 WD40 转录因子在类黄酮积累中具有重要的调控作用。

本研究在海南龙血树中获得一个编码 WD40 转录因子的基因 *DcWD40-1*, 该基因编码蛋白具有植物 WD40 蛋白的典型结构特征, 包含 5 个 WD40 重复基序。FPKM 值和 q-PCR 分析结果均显示无机盐诱导剂能够上调海南龙血树 *DcWD40-1* 基因的表达, *DcWD40-1* 的变化与血竭形成及类黄酮积累正相关 (Zhu et al., 2016), 说明其在类黄酮生物合成过程中可能具有重要的功能。长期以来, 黄酮类化合物一直被认为是一种保护植物组织免受紫外线危害的化学物质; 光照尤其是紫外辐射能够诱导植物体内类黄酮的积累和相关基因的表达 (Petruzza et al., 2013)。目前, 已证实茉莉酸、脱落酸、细胞分裂素和油菜素内酯等植物激素在类黄酮生物合成中具有重要的调控作用 (De et al., 2012; Yun et al., 2015; Xin et al., 2017; Koyama et al., 2018)。6-苄氨基腺嘌呤 (6-BA), 一种人工合成的细胞分裂素, 能促进海南龙血树组培苗血竭形成和诱导类黄酮合成相关基因表达 (杨本鹏等, 2009; Wang et al., 2015)。本研究发现, *DcWD40-1* 启动子区存在 1 个茉莉酸响应元件 CGTCA- motif、4 个 CTK 响应元件 CMR 以及众多的光响应元件, 如 3-AF1 binding site、ATCC-motif、ATCT-motif、Box I、GA-motif、G-box SP1、GT1-motif 等。表达分析进一步证实 MeJA、CTK、BR 和 UV-B 能够显著上调 *DcWD40-1* 的表达, 这说明 *DcWD40-1* 可能通过 Me-

JA、CTK、BR 和 UV-B 信号途径参与对类黄酮生物合成的调控。下一步, 我们将继续对 *DcWD40-1* 的功能和表达调控特征进行深入研究, 为通过转基因或激素及化学调控等方式改变 *DcWD40-1* 的表达来提高海南龙血树中类黄酮含量奠定基础。

## 参考文献:

- AN XH, TIAN Y, CHEN KQ, et al., 2012, The apple WD40 protein MdTTG1 interacts with bHLH but not MYB proteins to regulate anthocyanin accumulation [J]. *J Plant Physiol*, 169(7):710-717.
- BAUDRY A, HEIM MA, DUBREUCQ B, et al., 2004. *TT2*, *TT8*, and *TTG1* synergistically specify the expression of *BANYULS* and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 39(3):366-380
- BENSIMHON Z, JUDEINSTEIN S, NADLERHASSAR T, et al., 2011. A pomegranate (*Punica granatum* L.) WD40-repeat gene is a functional homologue of *Arabidopsis* *TTG1* and is involved in the regulation of anthocyanin biosynthesis during pomegranate fruit development [J]. *Planta*, 234(5):865-881.
- CHEN HQ, ZUO WJ, WANG H, et al., 2012. Two new antimicrobial flavanes from dragon's blood of *Dracaena cambodiana* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 14(5):436-440.
- DE GN, GHOLAMI A, GOORMACHTIG S, et al., 2012. Transcriptional machineries in jasmonate-elicited plant secondary metabolism [J]. *Trends Plant Sci*, 17(6):349-359.
- DE NV, QUATTROCCHIO F, MOL J, et al., 1997. The an11 locus controlling flower pigmentation in petunia encodes a novel WD-repeat protein conserved in yeast, plants, and animals [J]. *Genes Dev*, 11(11):1422-1434.
- GAO Y, LIU J, CHEN Y, et al., 2018. Tomato SIAN11 regulates flavonoid biosynthesis and seed dormancy by interaction with bHLH proteins but not with MYB proteins [J]. *Hortic Res*, 5:27.
- GUPTA D, BLEAKLEY B, GUPTA RK, 2008. Dragon's blood: botany, chemistry and therapeutic uses [J]. *J Ethnopharm*, 115(3):361-380.
- KOYAMA R, ROBERTO SR, DE RS, et al., 2018. Exogenous abscisic acid promotes anthocyanin biosynthesis and increased expression of flavonoid synthesis genes in *Vitis vinifera* × *Vitis labrusca* table grapes in a subtropical region [J]. *Front Plant Sci*, 9:323.
- LIU X, FENG C, ZHANG M, et al., 2013. The *MrWD40-1*, gene of chinese bayberry (*Myrica rubra*) interacts with MYB and bHLH to enhance anthocyanin accumulation [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 31(6):1474-1484.
- LUO Y, WANG H, ZHAO YX, et al., 2011. Cytotoxic and antibacterial flavonoids from dragon's blood of *Dracaena cam-*

- bodiana* [J]. *Planta Med*, 77(18):2053–2056.
- MEI WL, LUO Y, WANG H, et al., 2013. Two new flavonoids from dragon's blood of *Dracaena cambodiana* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 34(6):1791–1794.
- NAVAL MDM, GIL-MUÑOZ F, LLORET A, et al., 2016. A WD40-repeat protein from persimmon interacts with the regulators of proanthocyanidin biosynthesis DkMYB2 and DkMYB4 [J]. *Tree Genet Genomes*, 12(1):1–11.
- PETRUSSE E, BRAIDOT E, ZANCANI M, et al., 2013. Plant flavonoids-biosynthesis, transport and involvement in stress responses [J]. *Int J Mol Sci*, 14(7):14950–14973.
- TOHGE T, DE LS, FERNIE AR, 2017. Current understanding of the pathways of flavonoid biosynthesis in model and crop plants [J]. *J Exp Bot*, 68(15):4013–4028.
- WANG H, JIANG HM, LI FX, et al., 2017. Flavonoids from artificially induced dragon's blood of *Dracaena cambodiana* [J]. *Fitoterapia*, 121(1):1–5.
- WANG JY, DAI HF, LI HH, et al., 2015. Molecular and functional characterization of the chalcone synthase gene (*DcCHS1*) promoter in response to hormones [J]. *Plant Omics*, 8:398–404.
- WANG XH, GONG M, TANG L, et al., 2013. Cloning, bioinformatics and the enzyme activity analyses of a phenylalanine ammonia-lyase gene involved in dragon's blood biosynthesis in *Dracaena cambodiana* [J]. *Mol Biol Rep*, 40:97–107.
- WANG XH, ZHANG CH, YANG LL, et al., 2011. Production of dragon's blood in *Dracaena cochinchinensis* plants by inoculation of *Fusarium proliferatum* [J]. *Plant Sci*, 180(2):292–299.
- XIN L, LAN Z, AHAMMED GJ, et al., 2017. Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced flavonoid biosynthesis in *Camellia sinensis* L. [J]. *J Plant Physiol*, 214:145–151.
- XU C, MIN J, 2011. Structure and function of WD40 domain proteins [J]. *Protein Cell*, 2(3):202–214.
- XU W, GRAIN D, BOBET S, et al., 2014. Complexity and robustness of the flavonoid transcriptional regulatory network revealed by comprehensive analyses of MYB-bHLH-WDR complexes and their targets in *Arabidopsis* seed [J]. *New Phytol*, 202(1):132–144.
- XU W, DUBOS C, LEPINIEC L, 2015. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes [J]. *Trends Plant Sci*, 20(3):176–185.
- YANG BP, ZHANG SZ, CAI WW, et al., 2009. Induced formation of dragon's blood in the process of tissue culture of Cambodia dragon blood (*Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagnep) [J]. *Chin J Trop Crops*, 30(2):181–185. [杨本鹏, 张树珍, 蔡文伟, 等, 2009. 海南龙血树组织培养过程中血竭形成的诱导 [J]. *热带作物学报*, 30(2):181–185.]
- YAO P, ZHAO H, LUO X, et al., 2017. *Fagopyrum tataricum* FtWD40, functions as a positive regulator of anthocyanin biosynthesis in transgenic tobacco [J]. *J Plant Growth Reg*, 36(3):1–11.
- YUAN LB, PENG ZH, ZHI TT, et al., 2015. Brassinosteroid enhances cytokinin-induced anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* seedlings [J]. *Biol Plantarum*, 59(1):99–105.
- ZHENG DJ, XIE LS, WANG Y, et al., 2009. Research advances in dragon's blood plants in China [J]. *Chin Wild Plant Res*, 28:15–20. [郑道君, 谢良商, 王盈, 等, 2009. 中国血竭基源植物的研究与利用 [J]. *中国野生植物资源*, 28(6):15–20.]
- ZHENG QA, SAITO Y, MATSUO Y, et al., 2012. Flavonoid oligomers from Chinese dragon's blood, the red resins of *Dracaena cochinchinensis* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2(3):111–116.
- ZHU JH, CAO TJ, DAI HF, et al., 2016. *De Novo* transcriptome characterization of *Dracaena cambodiana* and analysis of genes involved in flavonoid accumulation during formation of dragon's blood [J]. *Sci Rep*, 6:38315.

(责任编辑 周翠鸣)