

利用类萜代谢工程改良作物风味

任彦 卢钢* 曹家树 李建勇

(浙江大学园艺系, 杭州 310029)

摘要 类萜是从植物中分离出的一类类异戊二烯物质。其中挥发性萜类除了在吸引授粉媒、异株克生和植物防御中起到一定的生态作用外, 还影响到水果、蔬菜和其他作物的香味形成。对类萜生物合成及其代谢工程的最新研究进展进行了综述, 探讨了代谢过程中的关键酶基因, 尤其是类萜合成酶(TPSs)基因的表达特性以及操纵类萜生物合成途径提高产量的几种可能的策略。随着更多相关基因的分离, 利用代谢工程人工改良作物风味将指日可待。

关键词 挥发性萜类物质; 生物合成途径; 代谢工程; 类萜合成酶基因

在过去的几十年中, 农作物育种的研究大多集中在增加产量以及提高作物抗性上, 如抗逆、抗虫、抗病等。而品质改良的目标则主要在于控制果实糖酸比以及改善质地和耐贮藏性。由于芳香品质的研究涉及到香味形成的基因、栽培环境和植物发育等多种因素, 而且目前还缺乏统一有效的鉴定风味品质的方法, 所以阻碍了传统育种中对于农产品芳香品质研究的发展。尽管在蔬菜、水果中已鉴定和分离了许多特殊风味和香气化合物, 但是对于控制它们产生的酶和基因以及它们的遗传模式却很少有人研究。利用基因工程改变作物风味的研究是从20世纪90年代才开始兴起的一个研究热点。

作物的风味是由其含有的不同芳香物质所决定的, 作物中的芳香物质是由不同挥发性物质组成的混合物, 主要包括挥发性醇类、醛类、酮类、萜类和酯类以及含硫化合物、呋喃、苯酚、环氧化物和碳氢化合物等^[1]。类萜(也称类异戊二烯)是在功能上和结构上种类最丰富的一类植物代谢物, 其化合物已发现了几万个^[2], 作为初生代谢物在呼吸作用、光合作用和生长发育调节中发挥作用。然而, 更多的挥发性类萜是植物的次生代谢物, 它们的功能很多, 如保护植物免受食草动物和病原体侵害, 吸引授粉媒, 作为异株毒物影响植物的种间竞争等。同时, 类萜作为作物中的一类风味物质, 具有重要的营养价值与商业价值。由于他们的重要性与多样性, 已有不少人对植物类萜进行了分离鉴定, 研究了其代谢途径、生理作用和基因调控的机制。

芳香物质的形成途径主要有5种^[3]: 即分别以脂

肪酸、氨基酸、色素及单糖和糖苷为前体的合成途径, 以及以羟基酸为前体烯萜类物质的合成途径。本文在介绍以羟基酸为前体的烯萜类物质生物合成途径的基础上, 着重介绍萜类在植物体内的合成途径以及近年来在调节萜类化合物合成提高作物风味品质方面的研究进展。

1 以羟基酸为前体的类萜生物合成途径

类萜代谢途径起始于五碳化合物异戊二烯(IPP)。IPP与其同分异构体二甲丙烯基焦磷酸(DMAPP)在异戊二烯转移酶的作用下缩合生成多种异戊二烯焦磷酸。IPP与DMAPP的缩合反应通过牻牛儿焦磷酸(GPP)合成酶以头尾缩合的方式形成十碳化合物GPP, 再形成单萜及其衍生物; 一分子DMAPP与两分子IPP在法呢焦磷酸(FPP)合成酶催化下缩合形成十五碳的化合物FPP, 再形成倍半萜及其衍生物; 两分子FPP缩合形成三十碳的化合物鲨烯(三十碳六烯, squalene), 是三萜和固醇的前体; 牻牛儿焦磷酸(GGPP)合成酶催化一分子DMAPP与三分子IPP缩合形成二十碳的化合物GGPP, 再形成双萜及其衍生物; 依次类推形成四萜、多萜及其衍生物, 构成了庞大的类萜家族^[4,5]。

目前在植物中发现了两条类萜合成途径: 细胞质途径(mevalonic acid pathway, MVA pathway)和质体途径(methylerythritol phosphate pathway, MEP

收稿日期: 2004-07-30 接受日期: 2004-12-28

国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(No.2002AA207013)

* 通讯作者。Tel: 0571-86971349, Fax: 0571-86971188, E-mail:

glu@zju.edu.cn

霉素)和四萜(C40, 如类胡萝卜素和叶绿素)。

利用类萜代谢工程调控挥发性类萜生物合成是近年来很活跃的一个研究领域。起初只是通过增加类异戊二烯前体的合成来提高类萜产量, 即提高代谢途径中关键酶的活性扩大代谢途径的流量, 从而增加 IPP 和 DMAPP 合成量以提高类萜产量, 但这种方法缺乏对各种目的萜烯化合物合成的针对性。随着类萜合成酶基因家族的分离鉴定及其文库的建立, 利用类萜合成酶基因表达改变转基因作物萜类化合物组成成为了一种新的改良风味品质的手段。另外, 虽然对异戊二烯转移酶和一些相关转录因子的研究还很不成熟, 但是它们也同样具有调节类萜生物合成的潜力。

2 IPP 和 DMAPP 的合成和类萜生物代谢的调控

IPP 和 DMAPP 是类萜代谢途径的起始物, 也是所有萜类化合物合成的前体, 提高它们在细胞中的水平是提高萜类产物合成的关键。

2.1 MVA 途径

细胞质中 HMGR 是 IPP 合成的 MVA 途径的关键酶, 也是 IPP 生物合成的重要限速酶。HMGR 的活性受到多种因素的影响, 包括光^[7]、植物生长调节剂、抑制物(MEV)、磷酸化、代谢途径的反馈作用、机械损伤和植物病原体等^[8]。该基因家族的成员数目从 2 个(拟南芥)到多个不等(如番茄中 4 个)^[9]。

Chappell 等^[10]将仓鼠 HMGR 基因转入烟草(*Nicotiana tabacum* L.)中, 其表达引起 HMGR 酶活性提高 3~6 倍, 从而使其类萜产物植物固醇的积累量提高 3~10 倍。Schaller 等^[11]将橡胶树(*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.)*hmgl* 基因转入烟草(*Nicotiana tabacum* L.)中, 同样也引起了 HMGR 酶活性的增加, 固醇量提高了 6 倍。Re 等^[12]认为, 尽管转基因拟南芥中的 HMGR mRNA 水平很高, 但其酶活性的增加是有限的。所以, 虽然 HMGR 是 MVA 中的关键酶, 但仅仅靠 HMGR 基因过量表达不足以稳定提高 IPP 和植物固醇的产量, 还需要与该途径中其他酶协调作用才能有效提高终产物的积累, 但是目前 MVA 途径中只有 HMGR 研究得比较清楚, 对其他酶的研究很少。

大肠杆菌体内缺乏 MVA 途径, 其类异戊二烯通过 MEP 途径完成, Martin 等^[13]将酵母菌 MVA 途径中的 8 个酶基因分为两组操纵子转入大肠杆菌

中, 使大肠杆菌体内形成了 MVA 途径并合成了 IPP 和 DMAPP, 同时转入酵母菌紫穗槐-4,11-二烯合成酶基因, 合成了大量的倍半萜紫穗槐二烯及其衍生物 artemisinin(一种抗疟药)。因为 IPP 和 DMAPP 是所有萜类化合物合成的前体, 只要能得到相应的类萜合成酶基因, 大肠杆菌就可以成为生产任何萜类化合物的服务平台。

2.2 MEP 途径

关于 MEP 途径中 DXS 和 DXR 的研究已有不少报道^[14-19]。DXS 是 MEP 途径中的第一个酶, 催化丙酮酸与甘油醛-3-磷酸合成脱氧木酮糖-5-磷酸。DXS 的表达能够调节番茄类胡萝卜素产物的积累^[17]。Estévez 等^[16]将该基因转移到拟南芥中表达, 拟南芥工程植株中脱落酸和维生素 E 的含量较对照分别提高了 4 倍和 2 倍, 说明 DXS 是该途径的重要限速酶之一, 其过量表达能促进大肠杆菌和植物中各种类异戊二烯产物的积累^[20]。Mandel 等^[21]已经从拟南芥中分离鉴定了编码 DXS 的 *CLA1* 基因。

这个途径中的第二步反应是由另一更为重要的关键酶 DXR 催化的。DXR 的作用还不十分清楚。在大肠杆菌中共同过量表达 DXS 和 DXR 与单独过量表达 DXS 相比, 提高了番茄红素的含量^[20]。类异戊二烯生物合成量的提高与单子叶植物根系和长春花细胞培养中 DXR 和 DXS 的积累呈正相关。研究人员从薄荷中分离到 DXR 基因, 并将 DXR 基因连接 CaMV 35S 启动子转移到薄荷中, 大多数转基因植株的薄荷精油(多为单萜化合物)含量与对照相比显著提高, 最高增幅可达 50%, 而精油的化学组成没有明显改变。在利用 DXR 基因的过量表达提高薄荷油产量的同时, 又通过反义技术, 降低了薄荷呋喃的产量, 从而提高了薄荷油的质量^[18]。这是第一个类萜途径代谢工程研究的成功报道, 开创了利用植物富集目的类萜化合物进行香精香料、医药用品以及农药的生产和农作物品种改良研究的先河, 展示了极具诱惑的应用前景, 但由于 MEP 途径被发现不久, 虽然 MEP 途径中的其他一些酶, 如 CMS、CMK 和 MCS, 它们的基因已经得到克隆^[8], 但尚未见其表达特性的研究, 其代谢调控机制还有待更加深入的研究。

3 类萜合成酶基因以及萜类风味化合物的代谢调控

植物类萜合成酶(TPSs)是类萜代谢途径中催化

单萜、倍半萜和二萜合成的一类庞大的酶家族，它们以 GPP、FPP 和 GGPP 为底物产生大量的萜类化合物。TPSs 是在代谢分支点上催化各种萜烯合成的第一个关键步骤，最初由 TPSs 合成的萜骨架可以在各种酶的作用下得到进一步修饰，这些酶可以是细胞色素 P450 羟化酶、脱氢酶、糖基转移酶和甲基转移酶^[4]。这些合成不同类型萜类化合物的合成酶其性质和亲电子反应机制都很相似，在裸子植物和双子叶被子植物中已发现了大量的这类合成酶基因，但在单子叶植物中只发现了少数几个 TPSs 基因。这类基因的共同结构特征反映在整个编码蛋白质中高度保守的氨基酸残基上^[22]，TPSs 的一个显著特征是 Asp 富集区，DDxxD 模体，这个区域涉及一个二价金属辅酶的结合^[23]。

3.1 TPSs 基因的分离及特性

目前已经克隆了 30 种以上的植物萜类合成酶 cDNA，它们中许多是编码次生代谢物合成途径中的酶。根据氨基酸序列相关性一般把植物 TPSs 基因家族分成 6 个亚族(*Tpsa*~*Tpsf*)^[22]，模式植物拟南芥基因组中包含了其中 5 个家族的 40 个萜类合成酶同源基因，最近又明确了拟南芥中的几个 TPSs 基因的功能：*AtTPS10* 基因(*At4g24210*)编码单萜 β- 香叶烯和(*E*)-β- 罗勒烯合成酶^[24]。*AtTPS03*(*At4g16740*)编码的一种离体情况下几乎只生成(*E*)-β- 罗勒烯的蛋白质，机械损伤和茉莉酸刺激会诱导(*E*)-β- 罗勒烯的产生^[25]。由 *At5g23960* 编码的重组蛋白质能够生成来自于 FPP 的 4 种不同产物，包括(-)-(*E*)-β- 丁香烯和 α- 蛇麻烯，两者总和占了花中释放的挥发性物质的 43%，另外两个基因(*At3g25810* 和 *At1g61680*)编码了几种催化 β- 香叶烯、单萜副产品和 S- 芳樟醇形成的酶。拟南芥各种器官中共有 32 个基因表达，其中 6 个几乎只在花中特异表达。拟南芥中存在的 TPSs 基因超级家族使其成了可以从多种角度来研究类萜生物合成的模式植物。

研究人员已经克隆了大量不同植物种类中的 TPSs 基因，如仙女扇(*Clarkia breweri*)，番茄(*Lycopersicon esculentum*)，鼠尾草(*Salvia officinalis*)，北美冷杉(*Abies grandis*)，黄花蒿(*Artemisia annua*)，玉米(*Zea mays*)，美洲油棕(*Elaeis oleifera*)，薄荷(*Mentha spp.*)，拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)，柠檬(*Citrus limon*)，菊苣(*Cichorium intybus*)和柚子(*Citrus junos*)^[4,26]。Dudareva 等^[27]将金鱼草(*Antirrhinum majus*)中发现的几个单萜合成酶基因和

拟南芥 *AtTPS14*(*At1g61680*)一起定义成 6 个亚家族以外的第 7 个亚族 *Tpsg*。对农作物 TPSs 基因的研究目前正在兴起，最近，Schnee 等^[28]又发现玉米受金埃及棉叶虫(*Spodoptera littoralis*)侵害后，体内的类萜合成酶会以 FPP 为底物催化玉米中主要的 3 种非环化倍半萜(*E*)-β- 金合欢烯、(3*R*)-(E)- 橙花叔醇和(*E*)-(E)- 金合欢醇的形成，编码这个酶的基因 *tps1* 是继 *an1* 和 *stc1* 基因以后在玉米中发现的第 3 个 TPSs 基因，它与仙女扇 *lis1* 基因序列有一致性，此编码酶在体外也能催化芳樟醇和香叶醇的形成。Köllner 等^[29]的研究表明，两个玉米栽培种间的这 3 种倍半萜在萜类混合物中组成比例的不同是由它们的两个等位基因 *tps4* 和 *tps5* 的改变引起的。Sharon-Asa 等^[30]报道了柑橘类水果中催化朱栾倍半萜生成的 *Cstps1* 基因，虽然柑橘类不是呼吸突变型水果，*Cstps1* 基因的表达却与乙烯有关，只在果实成熟时转录。

3.2 利用 TPSs 基因提高挥发性萜类化合物含量

目前，利用 TPSs 转基因农作物改变风味萜类化合物组成的研究还处于起步阶段，转入的基因主要是单萜合成酶基因，转基因植物主要集中在番茄、烟草以及一些花卉植物，如矮牵牛(*Petunia hybrida*)和香石竹(*Dianthus caryophyllus*)^[31]。

Lewinsohn 等^[32]在番茄中转入异源仙女扇(*C. breweri*)芳樟醇合成酶(LIS)基因，在果实成熟后期启动子(E8 启动子)的调控下引起成熟期 S- 芳樟醇和 8- 羟基- 芳樟醇的累积。他们推测 LIS 在果实成熟期的表达会将一部分质体合成途径中的类异戊二烯物质转变成 S- 芳樟醇，由此在成熟果实中提高 LIS 的浓度，改善果实的风味。

在烟草栽培品种 Petit Havana SR1 中转入柠檬(*Citrus limon* L. Burm. f.)的 3 个不同的单萜合成酶基因：γ- 萜品烯合成酶(TER)基因、柠檬烯合成酶(LIM)基因和 β- 松萜合成酶(PIN)基因，转基因烟草的单萜类混合物总量提高且成分发生改变，花和叶中都释放出了 β- 松萜、柠檬烯和 γ- 萜品烯^[31,33]。另外，有两种倍半萜合成酶基因也能在转基因烟草中表达，但这些植物中的倍半萜含量很低^[4]。Ohara 等^[34]将紫苏(*Perilla frutescens*)的柠檬烯合成酶(LS)基因转入烟草的质体、细胞质和内质网中，在质体和细胞质中分别测到高水平和中等水平的 LS 活性和柠檬烯产量，而定位在内质网中的 LS 无活性。实验表明，质体是 LS 作用的首选的场所，而在细胞质中 LS 也表现出活性。质体和细胞质定位的 LS 转基因

因植株中柠檬烯的产量分别提高了2.7和3.0倍，提高了烟草的香气量，改善了香气品质。

4 其他改良途径

4.1 转录因子

胡椒薄荷中直接涉及 *p*-薄荷烷单萜生物合成的基因大部分是在转录水平上被协同调节的，而且这些基因的表达似乎是受到同一个转录因子的控制。所以类萜代谢途径调节风味物质的另一种可能的方法就是操纵转录因子的表达，协同调节结构基因，增加萜类化合物含量。

4.1.1 调节类萜合成酶基因表达的转录因子 WRKY 转录因子是一类能够识别植物防御相关基因启动子末端 TTGAC(C/T)(称为 W 框)的 DNA 结合蛋白，与植物防御反应有关。由于植物中一些单萜、倍半萜和二萜化合物具有植保素功能，需要在植物防御反应时释放，所以可以利用 WRKY 转录因子调节这些萜类合成酶基因来提高萜类产物的产量。棉花 (*Gossypium arboreum*) 中催化倍半萜植保素(如棉子酚)生物合成的 (+)- δ -杜松烯合成酶(CAD1)基因 *CAD1-A*，它的启动子与 WRKY 转录因子有一个结合位点。Xu 等^[35]从棉花中分离了几个 WRKY cDNA，将其中一个转录因子 *GaWRKY1* 转入拟南芥中，激活了 *CAD1-A* 启动子。表明 *GaWRKY1* 通过调节对 *CAD1-A* 基因的作用调节了棉花中倍半萜的生物合成。

4.1.2 调节腺毛形成的转录因子 植物挥发性萜类物质在一些特殊结构中产生和储藏，这些特殊结构主要是腺毛。腺毛分布在叶片表面，它们的形成和发育涉及到几个正负调节子间的互作。拟南芥中正转录调节因子包括 *GL1*、*AtMYB23*、*TTG1* 和 *GL3*^[36]，它们的作用过程相当复杂，正负转录调节因子表达的增加和沉默都可以增加腺毛的数量和挥发性萜类产物的合成，从而改良农作物的风味品质。

4.2 异戊二烯转移酶

异戊二烯转移酶包括 GPP 合成酶(GPPS)、FPP 合成酶(FPPS)和 GGPP 合成酶(GGPPS)三个关键酶，过量表达可以增加相应萜类化合物的产量。Gaffe 等^[37]在番茄中分离到一个 FPPS 基因 *LeFPPS1*，在果实发育早期高度表达。Tholl 等^[38]在金鱼草 (*Antirrhinum majus*) 和仙女扇 (*Clarkia breweri*) 中发现了异源二聚体 GPPS 基因，其大小亚基在大肠杆菌中的表达与 GPPS 和 GGPPS 的活性有关，金鱼草 GPPS 小亚基调控了 GPP 和单萜的生物合成。Mahmoud 等

^[39]认为过量表达 GPP 合成酶或者抑制 GGPP 合成酶的确可以提高单萜的产量，但是 GGPP 同时也是许多重要代谢物(赤霉素、类胡萝卜素和叶绿素)的前体，减量调节 GGPP 产物对植物有害，所以应该慎用这个方法。

5 展望

通过分子生物学手段提高风味品质的工作才刚刚开始，许多与风味品质有关的基因还有待分离。风味物质合成途径是研究风味品质的前提，目前，对类萜合成途径的了解还不十分清楚，对合成过程中的关键酶类及其基因还知之甚少。

笔者认为，在类萜形成过程中多种酶对萜类合成起着调节作用，只增加一个关键酶基因在细胞内的拷贝数来提高目的产物的产量是有限的，转基因研究中可考虑进行几个关键酶的多基因转移，从中筛选出高表达的工程植株，走多基因控制的性状改良道路。例如将番茄中的八氢番茄红素合成酶(PSY)基因转化到烟草中，虽然转基因植株中类胡萝卜素含量有所提高，但对香气量影响不大。所以最理想的策略是整体上提高单萜、双萜、四萜化合物及其衍生物的含量。最近3个不同的单萜合成酶基因共转化烟草植株^[31]的获得展示了诱人的发展前景。另外，通过启动子的选择来调控基因表达的时空性，使得类萜挥发性物质的合成人为控制在植株的某一特定发育时期、某一特殊组织器官^[5]，可以取得更好的风味效果。由于许多芳香物质来源于植物体内普遍存在的代谢途径，只要其中的一小部分改变就能改变作物的风味，所以要慎重选择基因和启动子，避免改变了植物体内的其他代谢产物而导致的不利影响。

利用基因工程手段改善果蔬风味的研究才刚刚开始，随着涉及芳香物质合成的关键酶基因的发现，利用类萜代谢工程调控作物风味合成的潜力是很大的，改良作物风味品质对提高作物市场价值有着重要的作用，可以预计，一套提高农产品风味品质的成熟的技术路线的形成有着可观的市场前景。

参考文献 (References)

- [1] Aharoni A et al. *Plant Cell*, 2000, 12: 647
- [2] McGarvey DJ et al. *Plant Cell*, 1995, 7: 1015
- [3] 刘春香等. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2003, 34: 193
- [4] Aharoni A et al. *Plant Cell*, 2003, 15: 2866
- [5] 崔红等. *中国烟草学报*, 2003, 9: 35

- [6] Rodríguez-Concepción M *et al. Plant Physiol*, 2002, **130**: 1079
- [7] Rodríguez-Concepción M *et al. Plant Cell*, 2004, **16**: 144
- [8] Dubey VS *et al. J Biosci*, 2003, **28**: 637
- [9] Rodríguez-Concepción *et al. Plant Physiol*, 1999, **119**: 41
- [10] Chappell J *et al. Plant Physiol*, 1995, **109**: 1337
- [11] Schaller H *et al. Plant Physiol*, 1995, **109**: 761
- [12] Re EB *et al. Plant J*, 1995, **7**: 771
- [13] Martin VJ *et al. Nat Biotechnol*, 2003, **21**: 796
- [14] Bouvier F *et al. Plant Physiol*, 1998, **117**: 1423
- [15] Estévez JM *et al. Plant Physiol*, 2000, **124**: 95
- [16] Estévez JM *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 22901
- [17] Lois LM *et al. Plant J*, 2000, **22**: 503
- [18] Mahmoud SS *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 8915
- [19] Carretero-Paulet L *et al. Plant Physiol*, 2002, **129**: 1581
- [20] Kim SW *et al. Biotechnol Bioeng*, 2001, **72**: 408
- [21] Mandel MA *et al. Plant J*, 1996, **9**: 649
- [22] Bohlmann J *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 4126
- [23] Marrero PF *et al. J Biol Chem*, 1992, **267**: 21873
- [24] Bohlmann J *et al. Arch Biochem Biophys*, 2000, **375**: 261
- [25] Fäldt J *et al. Planta*, 2003, **216**: 745
- [26] Maruyama T *et al. Biol Pharm Bull*, 2001, **24**: 1171
- [27] Dudareva N *et al. Plant Cell*, 2003, **15**: 1227
- [28] Schnee C *et al. Plant Physiol*, 2002, **130**: 2049
- [29] Köllner TG *et al. Plant Cell*, 2004, **16**: 1115
- [30] Sharon-Asa L *et al. Plant J*, 2003, **36**: 664
- [31] Lücker J *et al. Plant Physiol*, 2004, **134**: 510
- [32] Lewinsohn E *et al. Plant Physiol*, 2001, **127**: 1256
- [33] Lücker J *et al. Eur J Biochem*, 2002, **269**: 3160
- [34] Ohara K *et al. J Exp Bot*, 2003, **54**: 2635
- [35] Xu YH *et al. Plant Physiol*, 2004, **135**: 507
- [36] Szymanski DB *et al. Trends Plant Sci*, 2000, **5**: 214
- [37] Gaffe J *et al. Plant Physiol*, 2000, **123**: 1351
- [38] Tholl D *et al. Plant Cell*, 2004, **16**: 977
- [39] Mahmoud SS *et al. Trends Plant Sci*, 2002, **7**: 366

Improving Flavor by Metabolic Engineering of the Terpenoid Pathway in Crop Plants

Yan Ren, Gang Lu*, Jia-Shu Cao, Jian-Yong Li

(Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract Terpenoid is a class of isoprenoids isolated from plants. In addition to ecological roles in attracting pollinator, allelopathy among plant species and protecting plants against herbivores and pathogens, volatile terpenoids are also involved in aroma formation in fruits, vegetables and other crops. In this article, an up-to-date view on the terpenoid biosynthesis and its metabolic engineering were given. The genes encoding the key enzymes of the metabolic pathway, especially the characteristics of terpenoid synthases (TPSs) gene expression, were discussed and subsequently it was discussed to what extent the terpenoid biosynthetic pathway could be manipulated genetically aiming at higher production levels of terpenes in crop plants. It is clear that many interesting results can be expected when more related genes become available.

Key words volatile terpenoids; biosynthetic pathway; metabolic engineering; terpenoid synthases gene

Received: July 30, 2004 Accepted: December 28, 2004

This work was supported by the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2002AA207013)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86971349, Fax: 86-571-86971188, E-mail: glu@zju.edu.cn