

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201705002

引文格式: 侯泽豪, 王书平, 魏淑东, 等. 植物花青素生物合成与调控的研究进展 [J]. 广西植物, 2017, 37(12):1603-1613
HOU ZH, WANG SP, WEI SD, et al. Anthocyanin biosynthesis and regulation in plants [J]. *Guihaia*, 2017, 37(12):1603-1613

植物花青素生物合成与调控的研究进展

侯泽豪, 王书平, 魏淑东, 刘志雄, 方正武*

(长江大学 农学院/主要粮食作物产业化湖北省协同创新中心, 湖北 荆州 434025)

摘要: 花青素是一种广泛存在于植物中的水溶性色素, 在植物抗逆和预防人类慢性疾病中起着重要作用。花青素生物合成过程在模式植物中的研究较为清晰, 其过程主要受多种结构基因编码的酶类及转录调控因子(MYB、bHLH 和 WD40 蛋白)控制。此外, *LBD* 基因家族中的 *LBD37*、*LBD38* 和 *LBD39* 基因对花青素的生物合成起负调控作用, micro RNA 和环境因子对花青素的生物合成过程也起到了调控作用。同时, 茉莉酸、赤霉素和脱落酸等植物激素也参与了花青素的生物合成调控过程。近年来, 随着人们对植物花青素研究不断深入, 越来越多的研究结果揭示花青素合成途径的分子调控机制在不同种植物中存在很大的差异性和复杂性。该文对植物花青素的合成途径、相关酶和各种调控因子进行了综述, 并概述了植物花青素合成代谢中基因突变与花色变异的关系, 旨在为今后深入研究花青素的分子调控机制, 解析其遗传规律以及利用基因工程开展作物遗传改良等方面提供理论依据。

关键词: 花青素, 生物合成, 相关酶, 调控因子, 颜色变异

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)12-1603-11

Anthocyanin biosynthesis and regulation in plants

HOU Ze-Hao, WANG Shu-Ping, WEI Shu-Dong, LIU Zhi-Xiong, FANG Zheng-Wu*

(Hubei Center for Collaborative Innovation of Grain Industry and College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China)

Abstract: Anthocyanins are water-soluble plant pigments which are widely found in plants. They play an important role in protecting plants from stress damage and preventing human chronic diseases. In model plants, the biosynthesis of anthocyanin is well studied, and the anthocyanin biosynthetic pathway is mainly controlled by a series of enzymes which are encoded by structural genes and transcriptional regulatory factors (include MYB, bHLH and WD40 proteins). In addition, three members of the *LBD* (*Lateral organ Boundary Domain*) gene family, *LBD37*, *LBD38* and *LBD39*, have been identified as negative regulators on anthocyanin biosynthesis, and micro RNA and environmental factors also have regulating effect during the anthocyanin biosynthetic pathway. Meanwhile, plant hormones such as jasmonic acid (JA), gibberellin (GA) and abscisic acid (ABA) are also involved in the regulation of anthocyanin biosynthesis. In light of the

收稿日期: 2017-08-14 修回日期: 2017-09-24

基金项目: 国家自然科学基金(31671755, 31571736) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31671755, 31571736)].

作者简介: 侯泽豪(1994-), 男, 广东揭阳人, 硕士研究生, 研究方向为作物遗传育种, (E-mail)houzehao1994@126.com。

*通信作者: 方正武, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事植物种质材料创新与利用, (E-mail)fangzhengwu88@163.com。

deeper researches on plant anthocyanins in recent years, the results of a growing number of researches indicate that the molecular regulation mechanism of anthocyanin synthesis pathway have a great diversity and complexity in different plants. This review provides an interpretation on the biosynthetic pathway of the anthocyanins, the related enzymes and regulatory factors. Besides, the review also summarizes the connection between gene mutation and color variation, and provides the theoretical basis for the further study of molecular regulation mechanism of anthocyanin, of its genetic regularity, and of crop genetic improvement based on genetic engineering.

Key words: anthocyanin, biosynthetic, related enzymes, regulatory factors, color variation

花青素 (anthocyanin) 又称花色素, 是指一类普遍分布于植物花瓣、果实、茎和叶等器官中的水溶性类黄酮色素。花青素在细胞质中合成并在液泡中积累, 产生从红色到紫色的颜色范围 (Tanaka et al, 2008)。广泛存在的花青素在植物的抗逆性中扮演着重要的角色, 例如抵御紫外线的辐射、抗干旱、抗低温以及抵御病菌等 (Ren et al, 2014), 花青素在花瓣中的积累可以吸引传粉媒介进行传粉作用 (Grotewold, 2006)。此外, 花青素在预防人类慢性疾病中起着重要作用 (Butelli et al, 2008)。

在过去的几十年里, 花青素的生物代谢过程研究在模式植物中已经取得了极大的进展, 其生物代谢合成途径的研究较为清晰。目前已经解析了矮牵牛 (*Petunia hybrida*)、圆叶牵牛 (*Ipomoea purpurea*)、龙胆 (*Gentiana scabra*) 等观赏植物在开花过程中花青素苷合成途径基因表达模式及其与花青素苷积累之间的关系。花青素的生物合成过程需要多种结构基因编码的酶参与, 同时还受到了多种调控基因的调控作用。此外, 研究表明花青素的生物合成过程还受到了诸多因子的影响, 包括 micro RNA、LBD 基因家族、光照、蔗糖和植物激素等。

随着分子生物学和生物信息学的发展, 越来越多的研究结果揭示花青素合成途径的分子调控机制在不同种植物中存在很大的差异性和复杂性。本文概述了近年来有关花青素的生物合成途径、相关酶及调控因子的研究进展, 并对基因突变及利用基因工程手段所引起的植物颜色变异进行了综述, 旨在为今后深入研究花青素的生物合成途径和调控机制, 解析其遗传规律以及利用基因工程开展作物遗传改良等方面提供理论依据。

1 花青素的结构与分类

从化学结构角度讲, 花青素属于多酚化合物中的类黄酮化合物, 是植物中一类重要的次生代谢产物。花青素的基本结构为 α -苯基苯并吡喃阳离子 (图 1), 具有一个基本的 C6(A 环)-C3(C 环)-C6(B 环) 的碳骨架结构, 由于环上不同位置发生的甲基化和羟基化修饰, 主要为 B 环上 R1 和 R2 位置的基团不同, 从而形成不同的花青素种类和颜色, 在自然界中鉴定的花青素至少有 27 类, 超过 550 种, 其中最为常见的花青素有 6 类, 分别为矢车菊色素 (Cyanidin, Cy)、芍药色素 (Peonidin, Pn)、天竺葵色素 (Pelargonidin, Pg)、锦葵色素 (Malvidin, Mv)、飞燕草色素 (Delphinidin, Dp) 和矮牵牛色素 (Petunidin, Pt)。目前, 自然界中发现的花青素种类约 92% 由这 6 类花青素衍生而来 (葛翠莲等, 2012)。

2 花青素生物代谢途径及关键酶

2.1 花青素的生物代谢途径

20 世纪 80 年代末 90 年代初, 对花青素的代谢途径研究已经较为成熟。合成途径如图 2 所示: 花青素苷生物合成的直接前体——苯丙氨酸, 在苯丙氨酸裂解酶 (Phenylalanin ammonialyase, PAL)、肉桂酸羟化酶 (Cinnamate 4-hydroxylase, C4H) 和香豆酸 CoA 连接酶 (4-coumarate: CoA ligase, 4CL) 的催化下形成 4-香豆酰 CoA。随后, 4-香豆酰 CoA 在查尔酮合成酶 (Chalcone synthase, CHS) 催化下生成黄色的查尔酮, 再经查尔酮异构

酶 (Chalcone isomerase, CHI) 和黄烷酮 3-羟化酶 (Flavanone 3-hydroxylase, F3H) 催化形成二氢黄酮醇, 二氢黄酮醇在类黄酮 3'-羟化酶 (Flavonoid 3'-hydroxylase, F3'H) 和类黄酮 3', 5'-羟化酶 (Flavonoid 3', 5'-hydroxylase, F3'5'H) 的催化下形成合成花青素的前体——双氢槲皮素和二氢杨梅黄酮, 二者经二氢黄酮醇-4-还原酶 (Dihydroflavonol-4-reductase, DFR) 的作用形成无色的花色素, 并经无色花青素双加氧酶/花青素合成酶 (Leucoanthocyanidin oxygenase/Anthocyanidin synthase, LDOX/ANS) 的催化形成有色的花色素, 最后花青素在类黄酮 3-O-糖苷转移酶 (Flavonoid 3-O-glucosyltransferase, UFGT) 的作用下与一个或多个葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、木糖和阿拉伯糖等形成糖苷键, 最终转化为稳定的花色素苷。原花青素 (Proanthocyanidins) 又称缩合单宁, 是广泛存在于各种植物的核、皮或种子中的一种多酚化合物。花青素和原花青素生物合成的直接前体均为苯丙氨酸, 从苯丙氨酸到无色花青素是花青素和原花青素代谢途径相同的部分, 无色花青素可在无色花色素还原酶 (Leucoanthocyanidin reductase, LAR) 的催化下形成 2, 3-黄烷-3 醇, 随后缩合成原花青素, 同时, 花青素可以在花青素还原酶 (Anthocyanidin reductase, ANR) 的催化下形成黄烷-3-醇, 最后聚合成原花青素。

模式植物花青素的生物合成过程已经研究得较为清晰, 但关于花青素的修饰和转运的研究报道却较为匮乏。花青素在细胞质和内质网膜上合成与修饰后, 经谷胱甘肽转移酶 (Glutathione transferase, GST) 的作用被转运到液泡上, 但如何从膜上转入液泡内尚不清楚 (Irani & Grotewold, 2005)。拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的 *TT19* 基因编码了一个谷胱甘肽转移酶, 研究表明缺失该基因会影响植株花青素和原花青素的积累, 并且 *tt19* 突变体的内皮细胞的液泡结构出现异常 (Lepiniec et al, 2006)。目前在许多植物中还鉴定到了花青素包涵体 (Anthocyanic vacuolar inclusions, AVIs), 该结构能优先聚集糖基化和酰基化的花青素 (Conn et al, 2003)。而 Irani & Grotewold (2005) 的研究中发现光能促进含有花青素的囊泡溶解并控制 AVI-

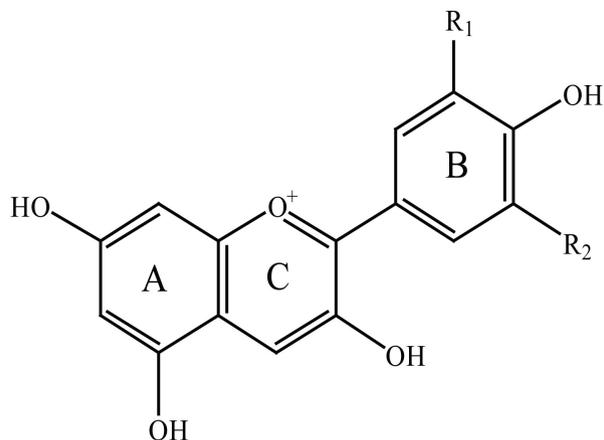


图 1 花青素的基本化学结构 (王辉等, 2009)

Fig. 1 Basic chemical structure of anthocyanin (Wang et al, 2009)

like 结构的形成。

2.2 花青素生物代谢的关键酶

苯丙氨酸作为花青素生物合成的直接前体, 在一系列酶的催化作用下最终形成花青素。这一生物合成过程涉及到多种相关酶的参与, 包括 PAL、CHS、F3H、DFR、ANS 和 UFGT 等。目前, 国内外研究人员利用分子技术已经从玉米 (*Zea mays*)、矮牵牛、金鱼草 (*Antirrhinum majus*) 等多种植物中分离和克隆出花青素苷生物合成酶的相关基因。

PAL 能催化苯丙氨酸脱氢形成肉桂酸, 是多酚类物质代谢途径中的一个限速酶。PAL 几乎存在于所有植物细胞中, 并在细菌、真菌和藻类中也能找到, 主要存在于线粒体、白色体、叶绿体和过氧化物酶体等细胞器中。PAL 由多基因家族编码, PAL 基因的表达受自身发育和环境因素双重调控。

CHS 是植物合成类黄酮类物质的第一个关键酶, 它的作用是催化 4-香豆酸 CoA 与丙二酸 CoA 缩合形成查尔酮, 为类黄酮的合成提供了基本的碳架结构。自 1983 年首次从荷兰芹 (*Petroselinum crispum*) 植物中克隆得到 CHS 基因以来, 科研人员已从拟南芥、水稻 (*Oryza sativa*)、大豆 (*Glycine max*) 和葡萄 (*Vitis vinifera*) 等植物中克隆了 CHS 的

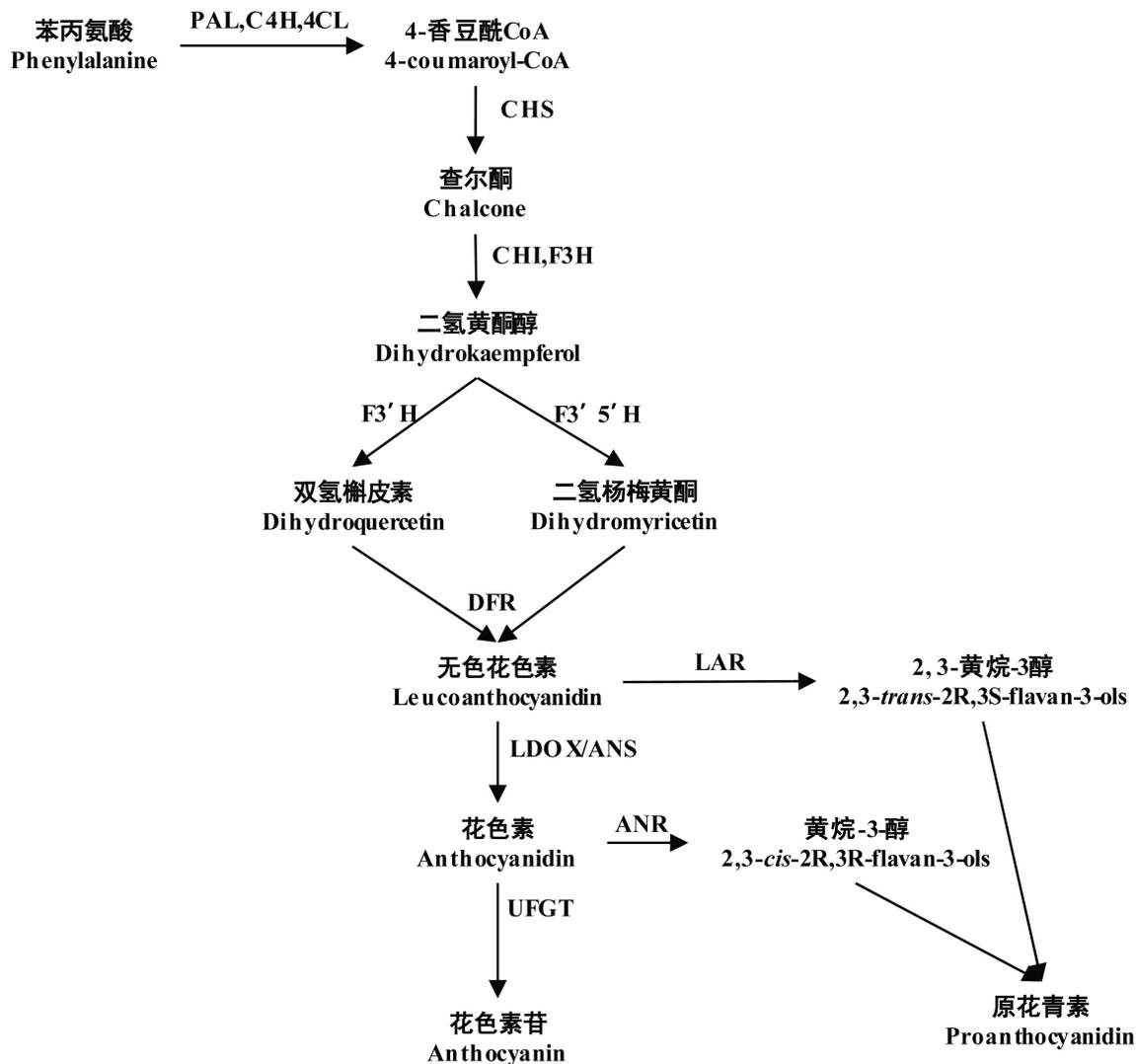


图 2 花青素的生物合成途径 PAL. 苯丙氨酸裂解酶; C4H. 肉桂酸羟化酶; 4CL. 香豆酸 CoA 连接酶; CHS. 查尔酮合成酶; CHI. 查尔酮异构酶; F3H. 黄酮酮 3-羟化酶; F3'H. 类黄酮 3'-羟化酶; F3'5'H. 类黄酮 3', 5'-羟化酶; DFR. 二氢黄酮醇-4-还原酶; LDOX. 无色花青素双加氧酶; ANS. 花青素合成酶; LAR. 无色花色素还原酶; ANR. 花青素还原酶; UFGT. 类黄酮 3-O-糖苷转移酶。

Fig. 2 Biosynthesis pathway of anthocyanin PAL. Phenylalanin ammonialyase; C4H. Cinnamate 4-hydroxylase; 4CL. 4-coumarate: CoA ligase; CHS. Chalcone synthase; CHI. Chalcone isomerase; F3H. Flavanone 3-hydroxylase; F3'H. Flavonoid 3'-hydroxylase; F3'5'H. Flavonoid 3', 5'-hydroxylase; DFR. Dihydroflavonol-4-reductase; LDOX. Leucoanthocyanidin oxygenase; ANS. Anthocyanidin synthase; LAR. Leucoanthocyanidin reductase; ANR. Anthocyanidin reductase; UFGT. Flavonoid 3-O-glucosyl transferase.

基因组 DNA 或 cDNA 序列, 并发现 *CHS* 是多基因家族基因, 且在不同植物类群中有较高的保守性结构域 (Jez & Noel, 2000)。

CHI 是第一个被认识的类黄酮合成相关酶, 可催化查尔酮转化为柚皮素, 形成的柚皮素可以与查尔酮一同作为底物进入其他不同黄酮类物质的合成代谢支路。Shimada et al (2003) 将 CHI 分成

两类, I 类 CHI 只能催化查尔酮转化为 (2S)-黄烷酮, 存在于绝大多数植物属中, II 类 CHI 则能将查尔酮和 6'-脱氧查尔酮分别异构化为 (2S)-黄烷酮和 (2S)-5-脱氧黄烷酮, 主要存在于豆科植物中。

F3H 是植物花青素生物合成途径中的一个关键酶, 能够催化黄烷酮生成二氢黄酮醇。目前已从金鱼草 (Martin et al, 1991)、矮牵牛 (Britsch et

al, 1992)、葡萄 (Sparvoli et al, 1994) 和拟南芥 (Pelletier & Shirley, 1996) 等多种植物中克隆得到 *F3H* 基因。Jiang et al (2013) 的研究表明反义抑制草莓 (*Fragaria* × *ananassa*) 中的 *F3H* 的表达会阻断花青素的合成代谢过程, 从而影响到果实中的花青素积累。

F3'H 和 *F3'5'H* 分别是色素合成途径中合成红色的矢车菊色素苷和蓝色的飞燕草色素苷的关键酶。*F3'H* 和 *F3'5'H* 均属于细胞色素 P450 单加氧酶, *F3'H* 具有催化多种依赖 NADPH 或 NADH 的底物氧化反应的功能, *F3'5'H* 能够在 NADPH 和 O_2 存在的情况下催化类黄酮 B 环 5'-位或 3', 5'-位发生羟基化反应, 是已知的催化 B 环 5'-羟基化反应的唯一酶系。*F3'H* 的 cDNA 序列最早是在矮牵牛中分离得到的 (Brugliera et al, 2002), 随后在金鱼草 (Ishiguro et al, 2012)、甘薯 (*Dioscorea esculenta*) (Zhou et al, 2011) 和淫羊藿 (*Epimedium*) (Huang et al, 2012) 等植物中也相继分离得到了 *F3'H* 的同源基因。研究表明, 植物中 *F3'H* 基因在转录水平上的丰度能有效影响花青素的合成 (Jeong et al, 2006; Shih et al, 2006)。因在缺乏 *F3'5'H* 的植物中, 蓝色花色素成分的合成受阻而不能形成蓝色花, 所以 *F3'5'H* 又被称为“蓝色基因”。目前已在矮牵牛 (Holton et al, 1993; Toguri et al, 1993)、菊科植物 (Compositae) (Seitz et al, 2006) 和番茄 (*Solanum lycopersicum*) (Olsen et al, 2010) 等植物中分离得到了可以编码具有酶活性的 *F3'5'H* 基因。

DFR 是类黄酮生物合成途径中的一个关键酶, 其在辅因子 NADPH 的作用下将第 4 位羰基还原为羟基, 并催化二氢黄酮醇生成无色花青素。已有的研究显示, 在花朵中的色素积累和果实的成熟过程中, 花青素的积累量与 DFR 酶的活性有着密切的联系 (Hisatomi et al, 1997; Rosati et al, 1997)。如在大麦 (*Hordeum vulgare*) (Meldgaard, 1992) 和拟南芥 (Shirley et al, 1995) 中, 由于 *DFR* 基因失活而导致花青素和原花青素的含量减少。O'Reilly et al (1985) 利用转座子标签技术从玉米和金鱼草中首次分离得到了 *DFR* 基因, 随后该基因相继从矮牵牛 (Beld et al, 1989)、拟南芥 (Shirley

et al, 1995) 等植物中得到分离克隆。Nakatsuka et al (2003) 研究表明 *DFR* 基因仅在花色素苷着色的器官中表达, 其基因的表达与花色素苷的生产存在相互协调关系。

ANS 位于花色素苷合成通路末端, 催化无色花色素转化为有色花色素, 属于氧化戊二酸依赖性加氧酶家族。自 1990 年采用转座子标签技术从玉米中分离出了 *ANS* 基因以来 (Menssen et al, 1990), *ANS* 基因已经在葡萄 (Sparvoli et al, 1994)、拟南芥 (Pelletier et al, 1997) 和水稻 (Reddy et al, 2007) 等物种中得到了克隆。Rosati et al (1999) 从美国金钟连翘 (*Forsythia viridissima*) 中克隆获得了 *ANS* 基因及其启动子序列, 并证明了花瓣中没有花色素苷的积累是由于缺少 *ANS* 基因的表达而引起的。

UFGT 是花青素合成途径中最后一个由结构基因编码的酶, 通过催化不稳定花色素苷的糖基化反应形成稳定的花青素, 这一过程是确保花青素的稳定性和水溶性的关键 (Yoshihara et al, 2005)。该酶在双子叶植物中的研究较多, 在苹果 (*Malus* × *domestica*)、葡萄、荔枝 (*Litchi chinensis*) 等植物中已克隆得到了编码该酶的基因。在葡萄的花青素合成研究中发现, *UFGT* 基因产物仅在红皮葡萄的果皮中发现, 而白皮葡萄的所有组织均无法积累花青素, 未发现 *UFGT* 基因产物的存在 (Boss et al, 1996)。Zhao et al (2012) 的研究则发现荔枝果皮中的花青素和类黄酮的含量与 *UFGT* 的 mRNA 水平呈现高度正相关, 认为 *UFGT* 在荔枝果皮的花青素合成过程中起着重要作用。

3 花青素合成的调控因子

植物花青素的生物合成除了受结构基因的控制外, 还受到调控基因以及其他因子的影响。目前已经鉴定的参与花青素合成调控的转录因子分为三类: MYB 蛋白、bHLH 蛋白和 WD40 蛋白。这些转录因子通过与结构基因启动子中相应的顺式作用元件结合, 从而调节花青素生物合成途径中一个或多个基因的表达。在这个过程中, 一般是由这三类蛋白构成一个 Myb/bHLH/WD 蛋白复合

体(MBW 复合体)来直接调控结构基因的转录。此外,*LBD*(Lateral organ Boundary Domain)基因家族和 micro RNA 对花青素的生物代谢过程也起到了调节作用(Rubin et al, 2009; Gou et al, 2011)。光照(Albert et al, 2009)、温度(Lai et al, 2011)和糖(Teng et al, 2005)等因子均能对花青素的合成与积累产生影响。同时,植物激素也能对花青素的生物合成起调控作用(Shan et al, 2009)。

3.1 影响花青素生物合成的内在因子

MYB 转录因子含有保守的 DNA 结合区域(Myb 结构域),根据含有 Myb 结构域的数量,可将 MYB 转录因子分为 3 类:含有 1 个结构域的 R3-MYB,含有 2 个结构域的 R2R3-MYB 和含有 3 个结构域的 R1R2R3-MYB。目前已从多种植物中分离鉴定出参与花青素合成调控的 R2R3-MYB 转录因子,已有的研究表明,R2R3-MYB 转录因子能直接调控与花青素生物代谢基因的表达水平,在花青素的生物合成调控中处于核心地位(Chiu & Li, 2012; Liu et al, 2015)。在许多植物中,过量表达 MYB 转录因子 *PAP1* 可以增加花青素生物合成下游基因的表达量并提高花青素的含量(Borevitz et al, 2000; Li et al, 2010; Ben et al, 2012)。Ai et al (2017) 将 *RsMYB1* 基因转入到矮牵牛中,发现 *RsMYB1* 基因的高水平表达可以提高花青素生物合成的结构基因(*PAL*、*CHS*、*DFR*、*ANS*)的表达量,从而增加了植株营养器官和花瓣中的花青素含量。MYB 家族蛋白中除了转录激活因子,还包含了另一类拥有转录抑制或负调控效应的因子。例如 Dubos et al(2008)和 Matsui et al(2008)同时发现拟南芥中的 *AtMYBL2* 基因(该基因编码一个 R3-MYB 蛋白 *AtMYBL2*),在缺失该基因的突变体中出现与花青素合成相关结构基因和调节基因的表达上调的现象,同时植株中的花青素含量也显著提高,同时发现 *AtMYBL2* 能直接与 MBW 复合体中的关键 bHLH 蛋白 TT8 结合形成复合体,进而抑制花青素合成关键结构基因(如 *DFR* 和 *LDOX*)和调节基因(*TT8*)的表达;研究中还发现,*mybl2* 突变体中 *CHI* 基因的表达量显著低于对照,但原花青素和黄酮醇含量的并未发生改变,而在过表达 *MYBL2* 的植株中 *CHI* 基因的表达不受影

响,却显著抑制了原花青素的积累,其中的机理有待深入研究。

bHLH 转录因子是植物中仅次于 MYB 转录因子的第二大转录因子超家族,对花青素的生物合成起到积极的调控作用。如 Butelli et al(2008)将金鱼草编码 MYB 和 bHLH 类的两个基因 *Rose1* 和 *Del* 转入到番茄中发现,其果实中积累了大量花青素,并呈现出不同程度的紫色。与 MYB 转录因子类似,bHLH 转录因子中也存在对花青素积累起抑制作用的成员。例如,拟南芥中 *BHLH32* 作为负调控因子参与低磷胁迫反应,研究发现缺失 *BHLH32* 的突变体在正常条件下 *DFR* 的表达量增加,并积累更多的花青素,据此推测 BHLH 可能具有通过干扰 MBW 复合物的功能,负调控低磷诱导的花青素合成等多种低磷胁迫反应(Chen et al, 2007)。

WD40 重复蛋白是在植物细胞质中发现的,其结构高度保守,一般含有 4~16 个串联重复的 WD 基元,每个基元含有由 40 个氨基酸残基组成的保守序列。现已鉴定了玉米(Ludwig et al, 1989)、矮牵牛(De Vetten et al, 1997)和拟南芥(Springob et al, 2003)等多种植物中的 WD40 重复蛋白。Ramsay & Glover(2005)的研究证实拟南芥 *TTG1* 可调控类黄酮/花青素的合成。矮牵牛 *AN11* 与 *TTG1* 具有高度同源性,在矮牵牛的 *an11* 突变体中 *DFR* 基因的表达量下降,影响花的色素积累(De Vetten et al, 1997)。

LBD 基因家族的 *LBD37*、*LBD38* 和 *LBD39* 被鉴定为花青素合成途径中的负调控因子,在拟南芥中,研究发现 N/NO_3^- (氮或硝酸盐)缺失条件下,过表达这三者之中的任意一个,均能强烈抑制 *PAP1* 和 *PAP2* 的表达,而 *lbd37*、*lbd38* 或 *lbd39* 突变体在 N/NO_3^- 充足的条件下能促进花青素的积累并提高了相关基因(如 *DFR*、*ANS* 和 *PAP1*)的表达量(Rubin et al, 2009)。Zhou et al(2012)的研究也证实了这一现象,研究中发现拟南芥的愈伤组织在高氮的培养条件下,这三个基因的表达量增加,并伴随着花青素含量的减少,验证了 *LBD37*、*LBD38* 和 *LBD39* 可以负调控花青素的生物合成。但仍需要更多的研究来阐明这些变化是否存在直接性,以及基因与产物间的相互作用关系(Rubin

et al, 2009)。

MicroRNA (miRNA) 是一类 21 ~ 25 个核苷酸长的非编码小 RNA, 以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在于基因组中, 主要通过靶 mRNA 的互补配对在转录后水平负调控靶 mRNA 的转录或翻译。已有部分的研究表明, 在拟南芥中 miRNAs 参与了花青素生物合成过程的调控 (Gou et al, 2011; Jaakola, 2013)。Gou et al (2011) 的研究发现提高 miR156 的活性显著抑制了 SPL (Squamosa promoter binding protein-like) 转录因子 *SPL9* 的表达, 从而上调了 *DFR* 的表达, 促进了花青素的积累; 而降低 miR156 的活性则导致黄酮醇的积累量增加, 进一步的研究证明了 miR156 的靶标 *SPL9* 主要通过降低 MBW 复合物的稳定性来抑制花青素的积累。Zhang et al (2014) 的研究则发现提高 miR408 同样也能促进花青素的积累。此外, Wang et al (2016) 的研究表明, miR858a 可以通过抑制花青素生物合成中的负调控因子 *MYBL2* 的表达而提高花青素的含量。贾小云等 (2015) 的研究表明 miR828 直接作用于靶基因 *SLMyb7-like*, 通过负调控花青素合成相关基因的表达, 进而负调控番茄植株中花青素的生物合成。

3.2 影响花青素生物合成的环境因子

光在植物的生长发育过程中是不可或缺的环境因子, 已有的研究表明光照可以增加植物中花青素的含量, 例如对荔枝果实进行套袋处理会影响花青素的积累, 并导致花青素生物合成相关基因的表达量下降, 而去袋并将果实暴露在阳光中时可以上调基因的表达 (Wei et al, 2011)。Feng et al (2013) 在苹果的研究中也得到了类似的结果, 并且发现其果皮中花青素含量的减少, 伴随有类黄酮的积累量增加, 这一现象暗示着黄酮醇和花青素的生物合成存在着底物竞争关系, 但其机制仍需深入研究。Jiang et al (2016) 在茄子 (*Solanum melongena*) 的研究中发现蓝光可以诱发 *CRY1/CRY2-COP1* 的互作, 导致 *HY5* 和 *MYB1* 与花青素生物合成的下游基因 (*CHS* 和 *DFR*) 结合而引起花青素含量的改变。

蔗糖在花青素的生物合成过程中具有调节作用, 关于蔗糖在促进植物的花和果实中的花青素

合成的调节机理研究已经取得了较多的成果。Zheng et al (2009) 的研究表明蔗糖可以通过调控花青素生物合成相关基因的表达而影响葡萄浆果中花青素的合成, 在拟南芥中, 外源蔗糖可以提高 *DFR*、*LDOX* 和 *UF3GT* 等基因的表达量, 而对 *CHI*、*CHS* 和 *C4H* 等花青素生物合成的上游基因的表达没有显著影响 (Solfanelli et al, 2006)。相对于生殖器官而言, 蔗糖影响植物营养器官中的花青素含量的报道较为少见, Ai et al (2016) 的研究发现, 非转基因的矮牵牛植株在含不同蔗糖浓度的 MS 培养基中花青素的积累量较少, 且花青素的含量不随蔗糖浓度的变化而变化, 而在转入转录调控因子 (*B-Peru + m PAPP1* 或 *RsMYB1*) 的植株中, 其茎的花青素含量增加, 使用含 3% ~ 7% 蔗糖的 MS 培养基对植株进行处理, 发现蔗糖的浓度与植株中花青素的含量呈正相关。

3.3 植物激素对花青素生物合成的调节作用

已有的研究表明蔗糖和植物激素在花青素的合成途径中均起到了重要的作用。Shan et al (2009) 在研究中发现茉莉酸 (JA) 可以诱导增加拟南芥子叶和胚轴中的花青素含量, 能上调花青素生物合成的下游基因 (*DFR*、*LDOX* 和 *UF3GT*) 的表达, 并且花青素生物合成的调节基因 (*PAP1*、*PAP2* 和 *GL3*) 的表达量也显著提高。Qi et al (2011) 在研究 JA 对花青素合成的分子机制中提出 JAZ (Jasmonate ZIM-domain) 蛋白通过与构成 MBW 复合体不可或缺的 R2R3-MYB (*GL1* 和 *MYB75*) 和 bHLH (*TT8*、*GL3* 和 *EGL3*) 转录因子的相互作用, 从而抑制了 JA 诱导的花青素合成过程, 但 JAZ 蛋白与 R2R3-MYB 家族的其他成员 (*MYB23*、*MYB90*、*MYB113* 和 *MYB114*) 的相互作用关系仍不清楚。Deikman & Hammer (1995) 的研究表明 6-BA 可以刺激拟南芥合成花青素。而 Loreti et al (2008) 的研究发现植物激素单独作用于拟南芥时并不能改变相关基因的表达及花青素的合成, JA 和 ABA 在提高花青素合成基因的表达上与蔗糖具有协同作用, 而 GA3 能抑制蔗糖诱导的植物花青素合成基因的表达, 并提出蔗糖是植物激素调控花青素合成的先决条件。

4 花青素合成代谢与花色变异

花青素的合成和转运受到多种结构基因和调控因子的影响,其中任何基因的改变都可能引起植物颜色的改变,我们生活中许多植物的颜色变异正是因为这些改变而引起的(祝志欣等,2016)。此外,人们基于花青素生物合成和呈色的分子机理,通过各种分子设计手段对花青素苷合成的不同分支途径进行人为干预,改变最终的花青素苷种类或含量进而实现花色表型的改良(戴思兰等,2016)。

4.1 基因突变而导致的颜色变异

生活中,许多常见的蔬菜、水果和花卉的颜色变异正是由花青素合成途径中基因的突变而引起的。Walker et al(2007)的研究表明红黑皮为葡萄的祖先状态,由于花青素合成的调控基因 *VvMYBA1* 和 *VvMYBA2* 同时发生突变,导致花青素特异结构基因 *3GT* 不能正常表达,因而形成了白皮品种。Cheng et al(2015)的研究发现编码 *GST* 的 *Raint* 基因是桃树(*Prunus persica*)中花朵颜色形成必不可少的因素,*GSTs* 在花青素从 ER 转运到液泡的过程中起到了重要的作用。由于 *Raint* 基因的最后一个外显子上出现小片段的插入突变而发生移码突变,导致编码产生的蛋白失去原有的功能,从而形成了红白双色的花朵,但其中的机理还有待进一步研究。此外,水稻的红米、红肉苹果、各种颜色的大丽花(*Dahlia variabilis*)和圆叶牵牛等均是由于基因的突变而形成的(祝志欣等,2016)。

4.2 人为干预而导致的颜色变异

对于花卉植物,人们非常注重其观赏价值,因而除了自然界中所保留下来的品种外,人们也尝试着利用分子手段对花色表型进行改良,并且在一些物种中已初见成效。例如世界上第 1 例利用基因工程改变矮牵牛花色的实验,便是利用直接导入外源结构基因的方法来改变其花色的,矮牵牛 *RL01* 突变体导入玉米 *DFR* 基因后,矮牵牛的花色由原来的白色变成了淡砖红色,创造了矮牵牛的新花色(Meyer et al,1987)。随后,利用相似的

方法,研究人员又相继创造产生了蓝色、红紫色、品红等颜色的矮牵牛。此外,利用 RNAi 技术对花色进行改造也取得了一定的成果。如 Nakatsuka et al(2010)使用 RNAi 技术对龙胆中 *F3'5'H* 和 *5'/3'AT* 进行反义抑制,将花色由蓝色变为浅蓝色;在矮牵牛中对内源 *F3'H* 进行 RNAi 抑制的同时过表达月季(*Rosa chinensis*) *DFR*,将红色矮牵牛改造为橙色矮牵牛;而在蓝目菊(*Arctotis venusta*)中抑制 *F3'5'H* 基因的表达,同时过表达非洲菊(*Gerbera jamesonii*) *DFR* 则能将原来的洋红色转变为浅红色(Ben et al,2012)。

5 展望

花青素作为一种分布广、种类多、安全性高、无毒性的天然色素,在医药、化妆、食品行业中都有着重要的应用。近年来,关于花青素的生物合成及调控机制的研究已经取得了较大的进展,各种因素对花青素合成的影响也有一定的研究。相比于花青素的生物合成途径,花青素从合成场所(ER 表面)转运到液泡中的生物学过程却鲜有报道。此外,花青素生物合成基因在不同物种,不同器官和组织的时空表达差异性、转录因子与生物合成基因间以及转录因子间的相互作用、花青素基因的遗传特征、环境因子间的相互作用对花青素合成的影响及花青素苷抵御生物和非生物逆境的机理等问题的研究仍较为欠缺。深入研究这些问题对于完善花青素的生物代谢过程及遗传机制,以及利用基因工程开展作物遗传改良具有重要指导作用。

参考文献:

- AI TN, NAING AH, ARUN M, et al, 2016. Sucrose-induced anthocyanin accumulation in vegetative tissue of *Petunia* plants requires anthocyanin regulatory transcription factors [J]. *Plant Sci*, 252: 144-150.
- AI TN, NAING AH, ARUN M, et al, 2017. Expression of *RsMYB1* in *Petunia* enhances anthocyanin production in vegetative and floral tissues [J]. *Sci Hortic-Amsterdam*, 214: 58-65.
- ALBERT NW, LEWIS DH, ZHANG H, et al, 2009. Light-in-

- duced vegetative anthocyanin pigmentation in *Petunia* [J]. *J Exp Bot*, 60(7):2191-2202.
- BELD M, MARTIN C, HUIITS H, et al, 1989. Flavonoid synthesis in *Petunia hybrida*: Partial characterization of dihydroflavonol-4-reductase genes [J]. *Plant Mol Biol*, 13(5):491-502.
- BEN ZVI MM, SHKLARMAN E, MASCIT, et al, 2012. PAP1 transcription factor enhances production of phenylpropanoid and terpenoid scent compounds in rose flowers [J]. *New Phytol*, 195(2):335-345.
- BOREVITZ JO, XIA Y, BLOUNT J, et al, 2000. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Plant Cell*, 12(12):2383-2394.
- BOSS PK, DAVIES C, ROBINSON SP, 1996. Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes [J]. *Plant Mol Biol*, 32(3):565-569.
- BRITSCH L, RUHNAU-BRICH B, FORKMANN G, 1992. Molecular cloning, sequence analysis, and *in vitro* expression of flavanone 3 β -hydroxylase from *Petunia hybrida* [J]. *J Biol Chem*, 267(8):5380-5387.
- BRUGLIERA F, BARRI-REWELL G, HOLTON T, et al, 2002. Isolation and characterization of a flavonoid 3'-hydroxylase cDNA clone corresponding to the *Ht1* locus of *Petunia hybrida* [J]. *Plant J*, 19(4):441-451.
- BUTELLI E, TITTA L, GIORGIO M, 2008. Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors [J]. *Nat Biotechnol*, 26(11):1301-1308.
- CHEN Z, NIMMO G, JENKINS G, et al, 2007. BHLH32 modulates several biochemical and morphological processes that respond to Pi starvation in *Arabidopsis* [J]. *Biochem J*, 405(1):191-198.
- CHENG J, LIAO L, ZHOU H, et al, 2015. A small indel mutation in an anthocyanin transporter causes variegated coloration of peach flowers [J]. *J Exp Bot*, 66(22):7227-7239.
- CHIU L, LI L, 2012. Characterization of the regulatory network of *BoMYB2* in controlling anthocyanin biosynthesis in purple cauliflower [J]. *Planta*, 236(4):1153-1164.
- CONN S, ZHANG W, FRANCO C, 2003. Anthocyanic vacuolar inclusions (AVIs) selectively bind acylated anthocyanins in *Vitis vinifera* L. (grapevine) suspension culture [J]. *Biotechnol Lett*, 25(11):835-839.
- DAI SL, HONG Y, 2016. Molecular breeding for flower colors modification on ornamental plants based on the mechanism of anthocyanins biosynthesis and coloration [J]. *Sci Agric Sin*, 49(3):529-542. [戴思兰, 洪艳, 2016. 基于花青素合成和呈色机理的观赏植物花色改良分子育种 [J]. *中国农业科学*, 49(3):529-542.]
- DE VETTEN N, 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]. *Gene Dev*, 11(11):1422-1434.
- DEIKMAN J, HAMMER PE, 1995. Induction of anthocyanin accumulation by cytokinins in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, 108(1):47-57.
- DUBOS C, LE GOURRIEREC J, BAUDRY A, et al, 2008. *MYB2* is a new regulator of flavonoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 55(6):940-953.
- FENG FJ, LI MJ, MA FW, et al, 2013. Phenylpropanoid metabolites and expression of key genes involved in anthocyanin biosynthesis in the shaded peel of apple fruit in response to sun exposure [J]. *Plant Physiol Biochem*, 69(8):54-61.
- GE CL, HUANG CH, XU XB, 2012. Research on anthocyanins biosynthesis in fruit [J]. *Acta Horti Sin*, 39(9):1655-1664. [葛翠莲, 黄春辉, 徐小彪, 2012. 果实花青素生物合成研究进展 [J]. *园艺学报*, 39(9):1655-1664.]
- GOU JY, FELIPPES FF, LIU CJ, et al, 2011. Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* by a miR156-targeted SPL transcription factor [J]. *Plant Cell*, 23(4):1512-1522.
- GROTEWOLD E, 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 57(1):761-780.
- HISATOMI Y, YONEDA Y, KASAHARA K, et al, 1997. DNA rearrangements at the region of the dihydroflavonol 4-reductase gene for flower pigmentation and incomplete dominance in morning glory carrying the mutable flaked mutation [J]. *Theor Appl Genet*, 95(4):509-515.
- HOLTON TA, BRUGLIERA F, LESTER DR, et al, 1993. Cloning and expression of cytochrome P450 genes controlling flower colour [J]. *Nature*, 366(6452):276-279.
- HUANG W, SUN W, WANG Y, 2012. Isolation and molecular characterisation of flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3', 5'-hydroxylase genes from a traditional Chinese medicinal plant, *Epimedium sagittatum* [J]. *Gene*, 497(1):125-130.
- IRANI N, GROTEWOLD E, 2005. Light-induced morphological alteration in anthocyanin-accumulating vacuoles of maize cells [J]. *BMC Plant Biol*, 5(1):1-15.
- ISHIGURO K, TANIGUCHI M, TANAKA Y, 2012. Functional analysis of *Antirrhinum kelloggii* flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3', 5'-hydroxylase genes; Critical role in flower color and evolution in the genus *Antirrhinum* [J]. *J Plant Res*, 125(3):451-456.
- JEONG ST, GOTO-YAMAMOTO N, HASHIZUME K, et al, 2006. Expression of the flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3', 5'-hydroxylase genes and flavonoid composition in grape (*Vitis vinifera*) [J]. *Plant Sci*, 170(1):61-69.
- JEZ JM, NOEL JP, 2000. Mechanism of chalcone synthase: PKa of the catalytic cysteine and the role of the conserved histidine in a plant polyketide synthase [J]. *J Biol Chem*, 275(50):39640-39643.
- JIA XY, LIU H, SHEN J, et al, 2015. Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in tomato by MicroRNA828 under phosphate deficiency [J]. *Sci Agric Sin*, 48(15):2911-2924. [贾小云, 刘慧, 沈洁, 等, 2015. MicroRNA828 负调控

- 缺磷胁迫诱导的番茄花青素生物合成 [J]. 中国农业科学, 48(15):2911-2924.]
- JIANG F, WANG JY, JIA HF, et al, 2013. RNAi-mediated silencing of the flavonone 3-hydroxylase gene and its effect on flavonoid biosynthesis in strawberry fruit [J]. J Plant Growth Regul, 32(1):182-190.
- JAAKOLA L, 2013. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits [J]. Trends Plant Sci, 18(9):477-483.
- JIANG MM, REB L, LIAN HL, et al, 2016. Novel insight into the mechanism underlying light-controlled anthocyanin accumulation in eggplant (*Solanum melongena* L.) [J]. Plant Sci, 249:46-58.
- LAI YS, YAMAGISHI M, SUZUKI T, 2011. Elevated temperature inhibits anthocyanin biosynthesis in the tepals of an Oriental hybrid lily via the suppression of *Lh MYB12* transcription [J]. Sci Horticulture-Amsterdam, 132(1):59-65.
- LEPINIEC L, DEBEAUJON I, ROUTABOUL JM, et al, 2006. Genetics and biochemistry of seed flavonoids [J]. Ann Rev Plant Biol, 57(1):405-430.
- LI X, GAO MJ, PAN HY, et al, 2010. Purple canola: *Arabidopsis PAP1* increases antioxidants and phenolics in *Brassica napus* leaves [J]. J Agric Food Chem, 58(3):1639-1645.
- LIU Y, OSBOURN A, MA PD, 2015. MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants [J]. Mol Plant, 8(5):689-708.
- LORETI E, POVERO G, NOVI G, et al, 2008. Gibberellins, jasmonate and abscisic acid modulate the sucrose-induced expression of anthocyanin biosynthetic genes in *Arabidopsis* [J]. New Phytol, 179(4):1004-1016.
- LUDWIG SR, HABERA LF, DELLAPORTA SL, et al, 1989. *Lc*, a member of the maize *R* gene family responsible for tissue-specific anthocyanin production, encodes a protein similar to transcriptional activators and contains the *myc*-homology region [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 86(18):7092-7096.
- MARTIN C, PRESCOTT A, MACKAY S, et al, 1991. Control of anthocyanin biosynthesis in flowers of *Antirrhinum majus* [J]. Plant J, 1(1):37-49.
- MATSUI K, UMEMURA Y, OHMETAKAGI M, 2008. *AtMYB12*, protein with a single MYB domain, acts as a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. Plant J, 55(6):954-967.
- MELDGAARD M, 1992. Expression of chalcone synthase, dihydroflavonol reductase, and flavanone-3-hydroxylase in mutants of barley deficient in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis [J]. Theor Appl Genet, 83(6):695-706.
- MENSSEN A, HOHMANN S, MARTIN W, et al, 1990. The *En/Spm* transposable element of *Zea mays* contains splice sites at the termini generating a novel intron from a *dSpm* element in the *A2* gene [J]. Embo J, 9(10):3051-3057.
- MEYER P, HEDMANNI I, ORKMANN G, et al, 1987. A new petunia flower colour generated by transformation of a mutant with a maize gene [J]. Nature, 30(6149):677-678.
- NAKATSUKA A, IZUMI Y, YAMAGISHI M, 2003. Spatial and temporal expression synthase and dihydroflavonol 4-reductase genes in the Asiatic hybrid lily [J]. Plant Sci, 165(4):759-767.
- NAKATSUKA T, MISHIBA KI, KUBOTA A, et al, 2010. Genetic engineering of novel flower colour by suppression of anthocyanin modification genes in gentian [J]. J Plant Physiol, 167(3):231-237.
- OLSEN KM, HEHN A, JUGDE H, et al, 2010. Identification and characterisation of CYP75A31, a new flavonoid 3'-5'-hydroxylase, isolated from *Solanum lycopersicum* [J]. BMC Plant Biology, 10(1):21.
- O'REILLY C, SHEPHERD NS, PEREIRA A, et al, 1985. Molecular cloning of the *a1* locus of *Zea mays* using the transposable elements *En* and *Mu1* [J]. Embo J, 4(4):877-882.
- PELLETIER MK, MURRELL JR, SHIRLEY BW, 1997. Characterization of flavonol synthase and leucoanthocyanidin dioxygenase genes in *Arabidopsis* (further evidence for differential regulation of "early" and "late" genes) [J]. Plant Physiol, 113(4):1437-1445.
- PELLETIER MK, SHIRLEY BW, 1996. Analysis of flavanone 3-hydroxylase in *Arabidopsis* seedlings [J]. Plant Physiol, 111(1):339-345.
- QI T, SONG S, REN Q, et al, 2011. The Jasmonate-ZIM-Domain proteins interact with the WD-Repeat bHLH MYB complexes to regulate Jasmonate-Mediated anthocyanin accumulation and trichome initiation in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell, 23(5):1795-1814.
- RAMSAY NA, GLOVER BJ, 2005. MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity [J]. Trends Plant Sci, 10(2):63-70.
- REDDY AM, REDDY VS, SCHEFFLER BE, et al, 2007. Novel transgenic rice overexpressing anthocyanidin synthase accumulates a mixture of flavonoids leading to an increased antioxidant potential [J]. Metab Eng, 9(1):95-111.
- REN LJ, HU AL, LI YL, et al, 2014. Heterologous expression of *Bo PAP1* in tomato induces stamen specific anthocyanin accumulation and enhances tolerance to a long-term low temperature stress [J]. J Plant Growth Regul, 33(4):757-768.
- ROSATI C, CADIC A, DURON M, et al, 1997. Molecular cloning and expression analysis of dihydroflavonol 4-reductase gene in flower organs of *Forsythia × intermedia* [J]. Plant Mol Biol, 35(3):303-311.
- ROSATI C, CADIC A, DURON M, et al, 1999. Molecular characterization of the anthocyanidin synthase gene in *Forsythia × intermedia* reveal organ-specific expression during flower development [J]. Plant Sci, 149(1):73-79.
- RUBIN G, TOHGE T, MATSUDA F, et al, 2009. Members of the LBD family of transcription factors repress anthocyanin synthesis and affect additional nitrogen responses in *Arabi-*

- dopsis* [J]. *Plant Cell*, 21(11):3567–3584.
- SEITZ C, EDER C, DEIML B, et al, 2006. Cloning, functional identification and sequence analysis of flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3', 5'-hydroxylase cDNAs reveals independent evolution of flavonoid 3', 5'-hydroxylase in the Asteraceae family [J]. *Plant Mol Biol*, 61(3):365–381.
- SHAN XY, ZHANG YS, PENG W, et al, 2009. Molecular mechanism for jasmonate-induction of anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 60(13):3849–3860.
- SHIH CH, CHU IK, YIP WK, et al, 2006. Differential expression of two flavonoid 3'-hydroxylase cDNAs involved in biosynthesis of anthocyanin pigments and 3-deoxyanthocyanidin phytoalexins in sorghum [J]. *Plant Cell Physiol*, 47(10):1412–1419.
- SHIMADA N, AOKI T, SATO S, et al, 2003. A cluster of genes encodes the two types of chalcone isomerase involved in the biosynthesis of general flavonoids and legume-specific 5-deoxy (iso) flavonoids in *Lotus japonicus* [J]. *Plant Physiol*, 131(3):941–951.
- SHIRLEY BW, KUBASEK WL, STORZ G, et al, 1995. Analysis of *Arabidopsis* mutants deficient in flavonoid biosynthesis [J]. *Plant J*, 8(5):659–671.
- SOLFANELLI C, POGGI A, LORETI E, et al, 2006. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 140(2):637–646.
- SPARVOLI F, MARTIN C, SCIENZA A, et al, 1994. Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Plant Mol Biol*, 24(5):743–755.
- SPRINGOB K, NAKAJIMA J, YAMAZAKI M, et al, 2003. Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins [J]. *Nat Prod Rep*, 20(3):288–303.
- TANAKA Y, SASAKI N, OHMIYA A, 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids [J]. *Plant J*, 54(4):733–749.
- TENG S, KEURENTJES J, BENTSINK L, et al, 2005. Sucrose-specific induction of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* requires the *MYB75/PAP1* gene [J]. *Plant Physiol*, 139(4):1840–1852.
- TOGURI T, AZUNLA M, OHTANI T, 1993. The cloning and characterization of a cDNA encoding a cytochrome P450 from the flowers of *Petunia hybrida* [J]. *Plant Sci*, 94(1–2):119–126.
- WALKER AR, LEE E, BOGS J, et al, 2007. White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes [J]. *Plant J*, 49(5):772–785.
- WANG H, GONG SY, LIU L, 2009. Review on anthocyanin distribution, synthesis and degradation [J]. *J Tea*, 35(4):203–206. [王辉, 龚淑英, 刘蕾, 2009. 花青素分布、合成和降解综述 [J]. 茶叶, 35(4):203–206.]
- WANG YL, WANG YQ, SONG ZQ, et al, 2016. Repression of *MYBL2* by both microRNA858a and HY5 leads to the activation of anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 9(10):1395–1405.
- WEI YZ, HU FC, HU GB, et al, 2011. Differential expression of anthocyanin biosynthetic genes in relation to anthocyanin accumulation in the pericarp of *Litchi chinensis* Sonn [J]. *PLoS ONE*, 6: e19455.
- YOSHIHARA N, IMAYAMA T, FUKUCHI-MIZUTANI M, et al, 2005. cDNA cloning and characterization of UDP-glucose: anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase in *Iris hollandica* [J]. *Plant Sci*, 169(3):496–501.
- ZHANG H, ZHAO X, LI J, et al, 2014. Micro RNA408 is critical for the HY5–SPL7 gene network that mediates the coordinated response to light and copper [J]. *Plant Cell*, 26:4933 – 4953.
- ZHAO ZC, HU GB, HU FC, et al, 2012. The UDP glucose: flavonoid-3-O-glucosyltransferase (UFGT) gene regulates anthocyanin biosynthesis in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) during fruit coloration [J]. *Mol Biol Rep*, 39(6):6409–6415.
- ZHENG Y, TIAN L, LIU H, et al, 2009. Sugars induce anthocyanin accumulation and flavanone 3-hydroxylase expression in grape berries [J]. *Plant Growth Regul*, 58(3):251–260.
- ZHOU LL, SHI MZ, XIE DY, 2012. Regulation of anthocyanin biosynthesis by nitrogen in TTG1-GL3/TT8-PAP1-programmed red cells of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Planta*, 236(3):825–837.
- ZHOU W, GONG YF, LU X, et al, 2011. Molecular cloning and characterization of a flavonoid 3'-hydroxylase gene from purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas*) [J]. *Mol Biol Rep*, 39(1):295–302.
- ZHU ZX, LU YQ, 2016. Plant color mutants and the anthocyanin pathway [J]. *Chin Bull Bot*, 51(1):107–119. [祝志欣, 鲁迎青, 2016. 花青素代谢途径与植物颜色变异 [J]. 植物学报, 51(1):107–119.]