

## 综述 Reviews

## 植物体内花青素苷生物合成及呈色的分子调控机制

庄维兵<sup>1,\*</sup>, 刘天宇<sup>2</sup>, 束晓春<sup>1</sup>, 渠慎春<sup>2</sup>, 翟恒华<sup>1</sup>, 王涛<sup>1</sup>, 张凤娇<sup>1</sup>, 王忠<sup>1,\*</sup><sup>1</sup>江苏省中国科学院植物研究所, 南京210014<sup>2</sup>南京农业大学园艺学院, 南京210095

**摘要:** 花青素苷是一类水溶性的类黄酮类化合物, 广泛存在于植物的根、茎、叶、花、果实、种子中, 使这些组织器官呈现出红、蓝、紫等不同的颜色, 同时有利于提高植株繁殖后代和抵御不良环境的能力。本文着重对花青素苷的生物合成途径、花青素苷的呈色机理及环境因子对花青素苷生物合成的调控等方面进行了综述, 并对今后的研究方向进行了展望, 以期更好地解析植物体内花青素苷生物合成的分子调控机制, 为丰富植物花、叶、果实等组织器官的颜色种类、定向改变植物体内花青素苷的含量及栽培设施的改进提供参考。

**关键词:** 花青素苷; 生物合成; 呈色机理; 环境因子

花青素苷(又称花色苷、花青苷或花色素)是一种天然的水溶性色素, 广泛存在于植物体内。花青素苷不仅赋予植物根、茎、叶、花、果实、种子等器官五彩缤纷的颜色, 而且可以提高植株繁殖后代和抵御不良环境的能力。当植物处于强光、低温、干旱等逆境时, 可以通过应激性合成花青素苷来渡过难关, 使植物免受强光、紫外线和低温的伤害, 提高植株抗旱能力, 具有抑制病虫害侵袭、吸引昆虫传粉、促进生长素运输等作用(邵信儒2016; 项阳等2015)。另一方面, 随着人们保健意识的增强, 花青素苷作为一种纯天然的色素, 安全、无毒, 且具有抗氧化、抗基因突变、抗肿瘤、保护心脑血管、提高免疫、增强记忆力等独特的生理功能, 广泛应用于食品、药品和化妆品等行业(李小兰等2017)。鉴于花青素苷对植物自身生长的重要作用及对人类保健方面的功能, 如何高效调控植物体内花青素苷的生物合成意义重大。本文对花青素苷的生物合成途径、花青素苷的呈色机理及环境因子对植物花青素苷生物合成的影响进行了总结, 并对今后的研究方向进行了展望, 以期更好地解析植物体内花青素苷生物合成的分子调控机制, 为利用基因工程开展作物遗传改良及栽培措施的改良提供参考依据和理论支持。

## 1 花青素苷的结构与种类

花青素苷是一类以黄酮核为基础的化合物, 其基本结构为两个芳香环和一个含氧杂环, 即C6-C3-C6结构(图1-A, Kay等2009)。B环上羟基或甲

氧基数量不同或者位置差异导致不同花青素苷的形成。迄今为止, 自然界中已有多达600种花青素苷被分离和鉴定, 主要从6种花青素苷元衍生而来, 即天竺葵素(pelargonidin)、矢车菊素(cyanidin)、飞燕草素(delphinidin)、芍药花素(peonidin)、矮牵牛素(malvidin)和锦葵素(petunidin) (图1-B)。花青素苷元在自然条件下性质不稳定, 易通过糖苷键与糖形成花青素苷, 构成花青素苷的单糖有葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、木糖和阿拉伯糖, 除单糖外还可能由以上5种单糖结合而成的二糖, 如芸香糖、槐二糖、龙胆二糖等(图1-C和D)。花青素苷因所带羟基数、甲基化、乙酰化、糖基化数目、糖种类和连接位置等因素的不同而呈现不同的颜色。在酸性条件下, 非酰化和单酰化花青素苷的颜色在很大程度上取决于连在糖苷配基苯环上的取代基。羟基越多, 色越向紫移, 而甲氧基化导致红移。花青素苷的糖基化和酰基化一般都具有紫移效应。

## 2 植物花青素苷生物合成、转运、降解及其分子调控机制

花青素苷在植物体内的生物合成已基本明确, 其合成途径是类黄酮类物质合成途径的一个分

收稿 2018-07-08 修定 2018-11-04

资助 国家自然科学基金(31700585)、江苏省自然科学基金(BK20170618)和江苏省植物资源研究与利用重点实验室开放基金(JSPKLB201829和JSPKLB201605)。

\* 共同通讯作者: 庄维兵(weibingzhuangnj@sina.com)、王忠(wangzhong19@163.com)。

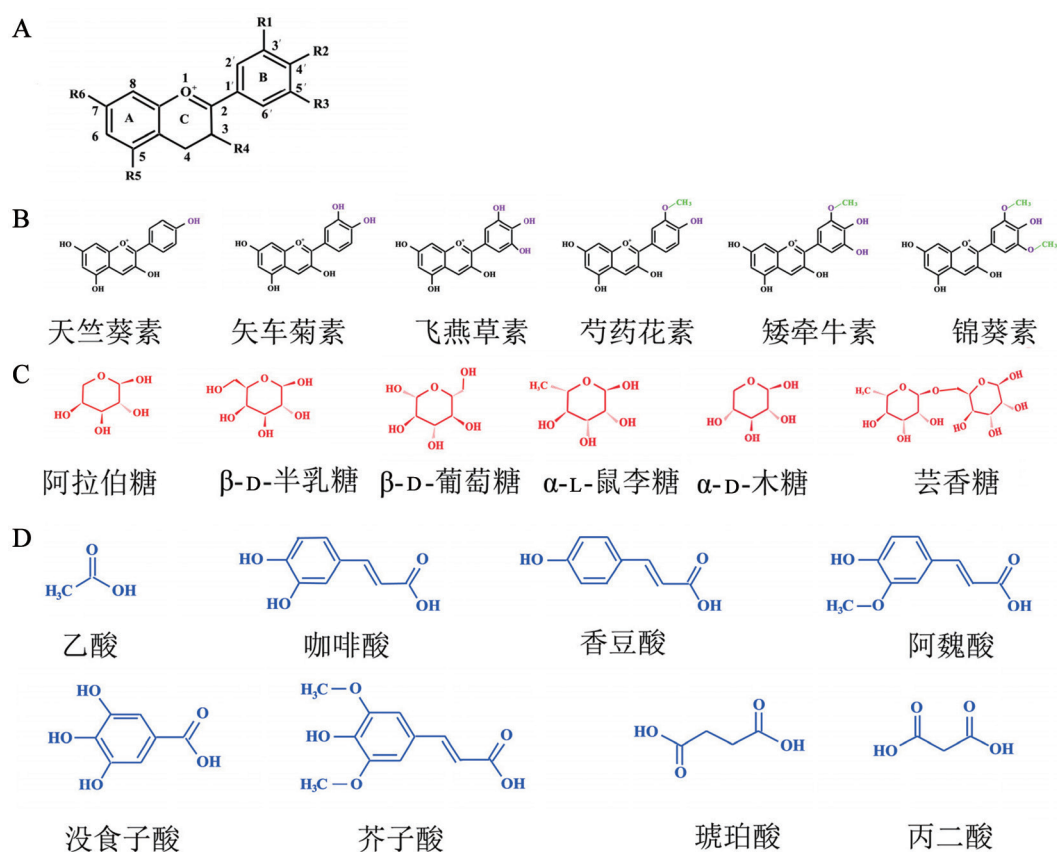


图1 花青素苷的结构和种类

Fig.1 Structures and types of anthocyanins

A: 花青素苷基本结构; B: 6种常见花青素苷结构图; C: 常见的用于糖基化的单糖和二糖; D: 常见的用于乙酰化的酸类。

支。苯丙氨酸是花青素苷生物合成的直接前体, 由苯丙氨酸到花青素苷大致经历3个阶段: 第一个阶段由苯丙氨酸到香豆酰-辅酶A, 该步骤受苯丙氨酸解氨酶基因调控; 第二阶段由香豆酰-辅酶A到二氢黄酮醇, 先由查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)催化香豆酰-辅酶A合成查尔酮, 黄色的查尔酮异构化形成无色的黄烷酮, 黄烷酮进一步在黄烷酮羟化酶(flavonoid-3',5'-hydroxylase, F3'5'H; flavonoid-3'-hydroxylase, F3'H; flavanone 3-hydroxylase, F3H)催化下形成无色的二氢黄酮醇, 然后还原形成无色花青素苷, 这一步由二氢黄酮醇还原酶(dihydroflavonol 4-reductase, DFR)催化; 第三阶段是各种花青素苷的合成, 无色花青素苷在花青素合成酶(anthocyanin synthase, ANS)作用下加氧转变成有色的花青素苷, 然后由糖基转移酶(glycosyl transferases, GT)、甲基转移酶(methyl transferase, MT)、酰基转移酶(acyl transferase, AT)催化形成颜

色不同的各种花青素苷(图2, Zhao和Tao 2015)。不同的花青素苷通过进一步修饰, 经过分子叠加效应及交互作用, 在不同器官组织中产生不同的色彩。

花青素苷的转运和积累很大程度上影响植物的颜色表型, 到目前为止发现了4类蛋白(GST、MRP、MATE和BTL-homologue)可能参与花青素苷向液泡的转运, 即4种花青素苷转运模型。第一种为GST和MRP共同介导的花青素苷的转运, 由位于细胞质的谷胱甘肽转移酶(glutathione S-transferase, GST)和位于液泡膜上的多药耐药抗性相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)共同完成的。在细胞质合成的花青素苷经GST催化形成谷胱甘肽交联复合物, 然后被液泡膜上的MRP识别, 将其跨膜转运至液泡(Goodman等2004)。第二种为多药和有毒化合物排出家族(multidrug and toxic compound extrusion, MATE)介导的花青素苷转运, 是通过定位在液泡膜上的MATE完成的。

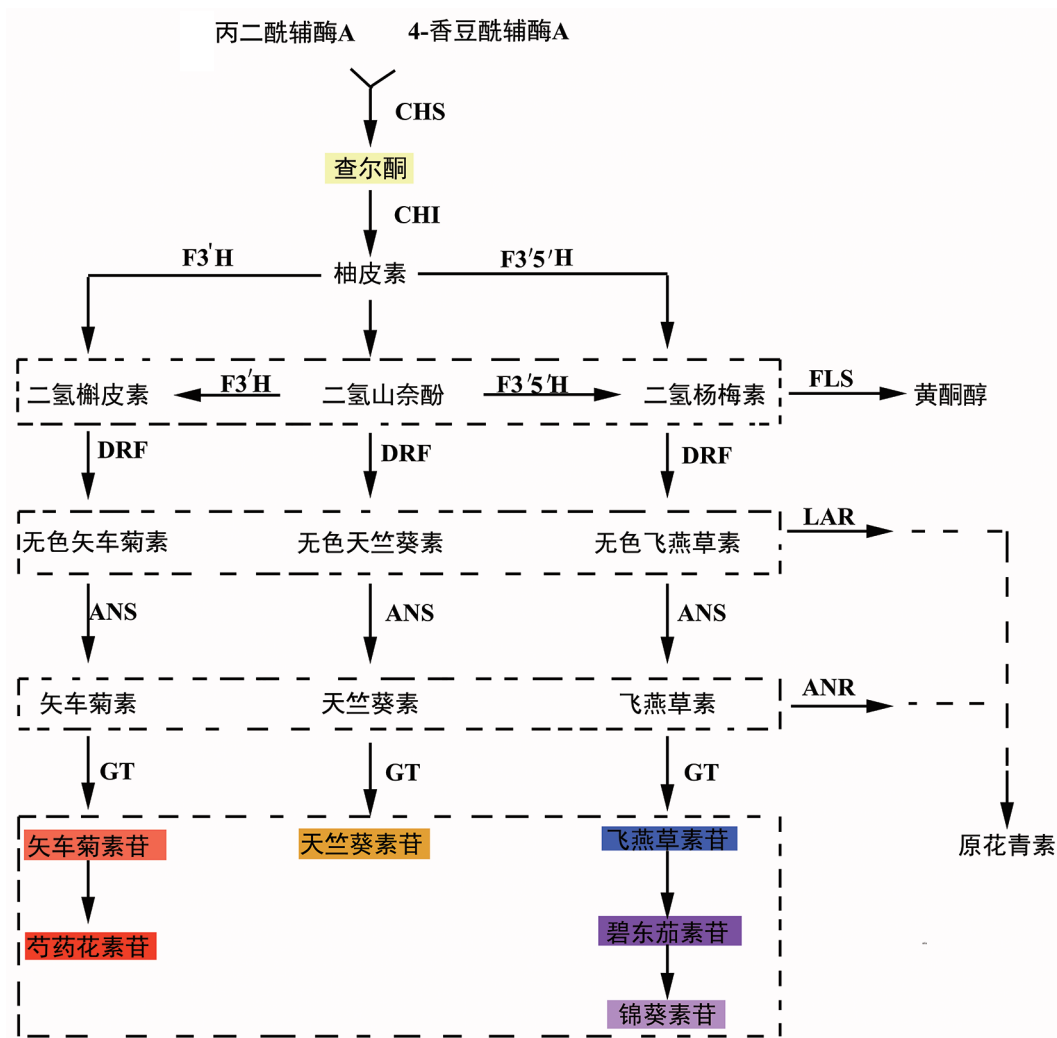


图2 花青素苷的生物合成途径及关键节点

Fig.2 Biosynthetic pathway of anthocyanins and key nodes

参照戴思兰和洪艳(2016)、王华等(2015)的文献修改,有颜色的方框表示方框内化合物的呈色类型。CHS: 查尔酮合成酶; CHI: 查尔酮-黄酮酮异构酶; F3'H: 类黄酮-3'-羟基化酶; F3'5'H: 类黄酮-3',5'-羟基化酶; FLS: 黄酮醇合成酶; DRF: 二氢黄酮醇-4-还原酶; LAR: 无色花色素还原酶; ANS: 花青素苷合成酶; ANR: 花青素还原酶; GT: 葡萄糖基转移酶。

ATP存在时,液泡膜上的MATE转运蛋白利用膜两侧的 $H^+/Na^+$ 浓度梯度作为推动力,将花青素苷向液泡内转运,同时将质子泵出液泡外(Yazaki等2008)。第三种为囊泡介导的花青素苷的转运,花青素苷在内质网合成以后,首先在细胞质聚集形成有膜包裹的泡状体(anthocyanoplast, ACP),ACPs主要通过3种囊泡途径被转运至液泡中:一种是通过前液泡组成体(prevacuolar compartments, PVCs)被运输至中央大液泡,ACPs破裂后形成无膜包裹的花青素苷液泡内涵体(anthocyanic vacuolar inclusions, AVIs)(Zhang等2006);另一种是被蛋白质储存泡(protein

storage vacuoles, PSVs)包裹并随其移动被运输至中央大液泡;最后一种是通过高尔基体的囊泡运输网络被转运至液泡(Zhao和Dixon 2010)。第四种为BTL-homologue介导的花青素苷的转运,可能的花青素苷转运机制是BTL-homologue与吸收四溴酚酞磺酸钠(bromosulfalein, BSP)的产电过程有关,与抗体一起对一段BTL序列呈现出交叉反应性(Passamonti等2002)。

花青素苷降解的分子机制研究较少,Oren-Shamir(2009)报道了参与花青素苷降解的3个候选的基因家族,即多酚氧化酶、过氧化物酶和 $\beta$ -葡糖



苷酶。它们主要通过两种途径参与花青素苷的降解,一种是直接通过过氧化物酶氧化作用降解;一种是先通过 $\beta$ -葡萄糖苷酶去糖基化,然后通过多酚氧化酶或过氧化物酶氧化进行降解(Barbagallo等2007; Oren-Shamir 2009)。Zipor等(2015)在大花鸳鸯茉莉(*Brunfelsia calycina*)花中发现*BcPrx01*(液泡过氧化物酶III)参与花青素苷的降解,在血橙(*Citrus sinensis*)和荔枝(*Litchi chinensis*)果实成熟的后期, $\beta$ -葡萄糖苷酶、多酚氧化酶、过氧化物酶可能参与花青素苷的降解(Zhang等2001, 2005; Barbagallo等2007)。

花青素苷的生物合成受两套基因的控制,即结构基因和调节基因。结构基因为不同植物所共有,负责编码花青素苷生物合成途径中的酶。结构基因包括两个重要的基因群,即上游基因群(*CHS*、*CHI*和*F3H*)和下游基因群(*F3'H*、*F3'5'H*、*DFR*、*ANS*和*UFGT*)。上游基因群比较保守,在低等的苔藓植物中都有发现,通常编码通路起始位点上参与黄酮、黄酮醇和鞣红合成的相关酶,下游基因群主要编码合成花青素苷和原花青素苷的酶。

调节基因主要包括编码MYB、bHLH和WD40这三类转录因子的基因,他们通过与结构基因启动子中相应顺式作用元件结合来调节花青素苷生物合成相关基因的表达。烟草(*Nicotiana tabacum*)过表达茶(*Camellia sinensis*)叶R2R3-MYB转录因子(*CsMYB6A*),活化了*CHS*和*3GT*基因的表达,从而使转基因株系叶片中花青素苷含量升高,叶片变紫色(He等2018);过表达拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) MYB家族*PAP1*基因可以促进花青素苷的积累,使转基因烟草株系的叶片、茎段和花器官呈现出不同程度的紫红色(刘轶等2017)。血桃(*Prunus persica*)着色基因*BL*能激活花青素苷MYB基因转录,从而促进果肉积累花青素苷而使其呈现血色(Zhou等2015)。拟南芥中*AtMYB11*和*AtMYB12*能够共调节花青素苷合成相关的结构基因*CHS*、*CHI*、*F3H*等,从而提高整个植株花青素苷含量(Dubos等2010)。月季(*Rosa chinensis*) *R2R3-MYB*基因的上调可激活多个花青素苷合成相关结构基因的表达,从而使叶片和花瓣积累花青素苷(Bendahmane等2013)。

bHLH家族的共同特征是具有可与DNA结合的bHLH结构域。在茄子(*Solanum melongena*)和辣

椒(*Capsicum annuum*)中,有花青素苷的果实部分比没有花青素苷的果实部分*CabHLH*和*SmbHLH*基因的表达水平高(Stommel和Dumm 2015)。番茄(*Solanum lycopersicum*)中过表达bHLH家族的*SIANI*基因,转基因番茄果皮中花青素苷浓度有了极大的提高(Qiu等2016)。番茄bHLH家族中的III<sub>f</sub>亚家族成员TT8、GL3和EGL3与WD40家族中的TTG1和MYB转录因子结合形成MBW复合体调控花青素苷的生物合成(Tominaga-Wada等2017)。bHLH家族中的III(d+e)亚家族能够促进花青素苷的生物合成(Qi等2015)。低温可以诱导*MdbHLH3*的表达,从而调控苹果果实花青素苷的积累和果实着色(Nemesio-Gorriz等2017)。

WD40蛋白是一类高度保守的蛋白,一般由多个WD基元串联重复而成。与MYB转录因子不同,该家族蛋白缺少DNA结合区,不能直接作用于DNA,没有任何转录功能,其功能更像是其他蛋白质之间相互作用的平台(Li等2014)。WD40能够与MYB和bHLH互作形成MBW复合体调控花青素苷的生物合成。bHLH既可以自身互作,也可以与MYB和WDR相互作用,因此可能起着更重要的作用(祝志欣和鲁迎青2016)。烟草中异源表达茶树WD40基因*CsWD40*可以显著提高转基因植株花瓣中花青素苷的含量,同时转化*CsWD40*和*CsMYB5e*基因可以显著提高转基因植株的花青素苷和原花青素的含量(Liu等2018)。烟草中异源表达苦荞麦(*Fagopyrum tataricum*) WD40基因*FtWD40*可以显著增加花瓣的颜色,同时与花青素苷合成相关的*DFR*及*ANS*均上调表达(Yao等2017)。Dong (2014)研究发现红薯(*Ipomoea batatas*)中*IbWD40*基因的表达模式与其花青素苷的含量正相关,在拟南芥中过表达该基因可以显著提高其花青素苷的含量。*StAN11*基因是一种马铃薯(*Solanum tuberosum*)中的WD40基因,过表达该基因可以导致转基因马铃薯的块茎表皮颜色加深,研究表明*StAN11*通过控制*DFR*表达来调节马铃薯花色苷生物合成(Li等2013)。

MYB、bHLH和WD40三类转录因子还可以通过互作形成MBW复合体调控花青素的生物合成(祝志欣和鲁迎青2016)。MBW复合体调控植物花青素苷生物合成的分子机制如图3所示:首先,MBW复合体的靶基因众多,既有bHLH和WD40,

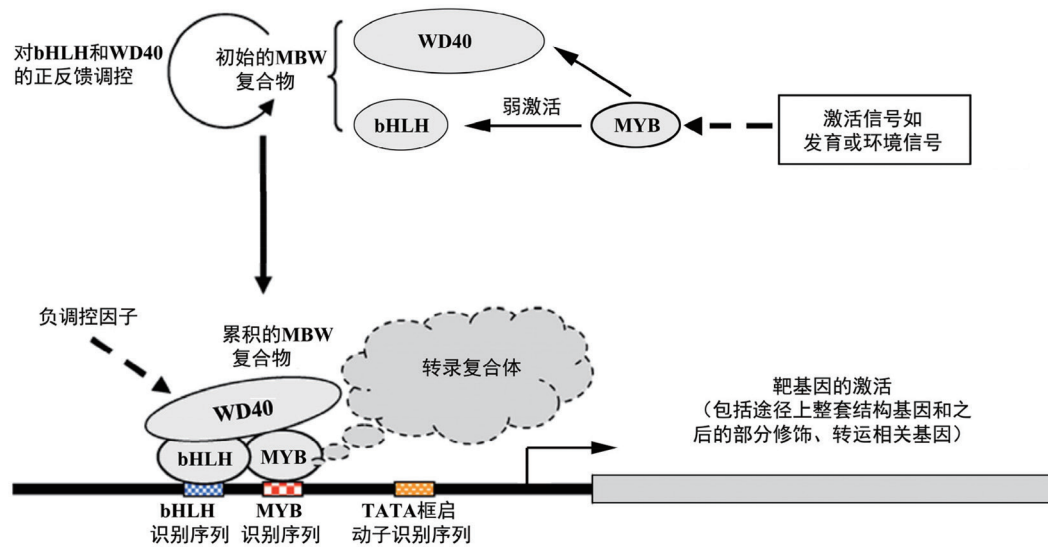


图3 花青素苷代谢途径转录激活假说示意图

Fig.3 Hypothesized regulatory mechanism for the activation of anthocyanin pathway

参照祝志欣和鲁迎青(2016)的文献修改。

又有花青素苷生物合成相关的几乎所有的结构基因, 以及下游的部分修饰和转运基因, 如3GGT、GST、MATE与 $H^+$ -ATPase等; 其次, MYB对以上靶基因具有很弱的激活功能, 可以使植物在信号诱导下产生特异的MYB, 然后反馈性地完成复合体中bHLH和WD40的积累; 最后, MYB、bHLH和WD40三者形成MBW复合体, 该复合体对靶基因的激活能力比MYB单独作用更强, 可以有效开启花青素苷的合成、修饰和转运相关基因的表达。MYB蛋白主要调控花青素苷生物合成途径的上游基因群, 而MBW复合体主要调控下游基因群(祝志欣和鲁迎青2016)。在拟南芥中, 与花色相关的重要转录因子PAP1和PAP2通过与WD40家族的TTG1以及bHLH家族的TT8结合, 共同激活CHS、DFR和LDOX的表达(Borevitz等2000)。在玉米(*Zea mays*)种子中, bHLH蛋白依赖于MYB家族的C1和WD40家族的PAC1, 从而调控整个花青素的合成途径(Carey等2004)。在茄子中, SmTTG1、SmGL3和SmTT8之间有复杂的相互作用并且形成MBW复合体共同调控其花青素的合成(刘新宇等2014)。矮牵牛(*Petunia hybrida*)花粉囊和花瓣中的花青素是由两种不同的MBW蛋白复合物调控, WD40 AN11、bHLH AN1和R2R3 AN4负责调控花粉囊内的花青素合成, 而WD40 AN11、BHLH AN1和

R2R3-MYB AN2复合蛋白负责调控花瓣内的花青素合成。TTG1转录因子参与很多生理反应, 而bHLH蛋白TT8、GL3和EGL3在功能上部分相似(Zhang等2003), 且有研究表明MBW蛋白复合物对于DNA的特异结合位点是由MYB蛋白决定的(刘新宇等2014)。

除以上3类转录因子家族调控花青素苷的生物合成外, 拟南芥中JAZ蛋白可以通过破坏bHLH-MYB形成复合物, 从而负调控花青素苷的生物合成(Pauwels等2011)。HY5 (long hypocotyl 5)和HYH (HY5 Homolog)转录因子在低温诱导下可以结合到结构基因的启动子区域而不通过MBW复合体调控花青素苷的生物合成(Zhang等2011)。LED (lateral organ boundaries domain)蛋白家族在缺氮条件下可直接作用于MYB家族基因PAP1和PAP2的启动子区域, 进而抑制花青素苷合成基因的表达(Rubin等2009)。

花青素苷生物合成的转录后调控主要包括蛋白质泛素化、蛋白质磷酸化小分子RNA (microRNA, miRNA)及小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA)介导的转录后基因沉默等方面。苹果(*Malus pumila*) COP1 (constitutively photomorphogenic1) 可与MYB互作, 参与暗条件下MYB的泛素化及其降解, 从而调控光介导的花青素苷生物合成(Li等

2012)。拟南芥COP1和SPA (suppressor of PHYA-105) 通过靶向结合多个花青素苷合成相关的调节基因(如PAP1、PAP2、HY5及其同源物HYH)来抑制光诱导的花青素苷生物合成(Shin等2013)。苹果中葡萄糖响应基因MdHXX1可以通过磷酸化稳定MdbHLH3来促进花青素的生物合成(Hu等2016)。Li等(2016)在拟南芥中发现MYB75被MPK4磷酸化是光诱导下花青素积累所必需的。Heine等(2004)鉴定了两个保守的半胱氨酸残基作为MYB转录因子R2R3结构域中的调节模块。虽然cys-53在不同生物的MYB中高度保守,但Cys-49对植物R2R3结构域具有特异性。植物中第二个半胱氨酸残基的出现可以改变Cys-53的可及性,从而改变其形成二硫键的能力。因此,Cys-49可通过调节其二聚化能力来调节植物MYB转录因子的DNA结合能力进而调控植物花青素的积累(Pireyre和Burow 2014)。

miRNA是由呈发夹结构的单链RNA前体经Dicer酶加工而成,它与靶基因RNA的序列互补引起靶基因RNA的切割或抑制其翻译,从而对植物的生长发育进行转录后调控。拟南芥中过表达miR828发现miR828/TAS4-siR81(-)能通过抑制花青素苷正调控因子PAP1、PAP2、MYB113的表达进而负调控花青素苷的积累(Yang等2013)。miR156靶向定位的SPL转录因子可使MBW转录复合体变得不稳定,最终影响花青素苷的生物合成,高活性的miR156可以促进花青素苷的积累,低活性的miR156则促进黄酮醇的积累(Gou等2011)。siRNA介导的CHS转录后基因沉默可以产生纯白色的大丽花(*Octoploid dahlia*) (Ohno等2011)。在双色矮牵牛中,双色花的花色表型可能是由21个核苷酸的siRNA介导的CHS-A转录后基因沉默导致的(Morita等2012)。

DNA甲基化的程度可以影响植物花青素苷的生物合成,进而改变植物器官的颜色。在苹果'Ralls'果皮中,MdMYB1启动子区域DNA甲基化程度远远高于其红色芽变品种(Xu等2012);文心兰属植物中OgCHS启动子5'区域甲基化会导致该基因表达量降低,从而使其花青素苷的积累降低(Liu等2012);在红色果皮梨(*Pyrus* spp.)中,PcMYB10启动子超甲基化与其绿色果皮表现型密切相关(Wang等2013);在梨的红色芽变品种'Zaosu Red'中,Py-

MYB10启动子在富含花青素苷的组织中甲基化程度很低,说明在花青素苷合成过程中发生了去甲基化现象(Qian等2014)。

### 3 花青素苷在植物器官中的呈色机理

植物器官呈现红、紫、蓝等颜色是植物体内花青素苷种类、分子间辅助着色、分子堆积作用、金属离子的络合作用及液泡pH值相互作用的结果。植物生长过程中这些因素的变化及彼此间相互作用共同决定着植物丰富多彩的器官颜色。

#### 3.1 分子间辅助着色对花青素苷在植物器官中呈色的影响

花青素苷与黄酮或多酚类化合物等辅助色素之间以化学键结合形成特定的空间结构,从而保护花青素苷不受水化反应攻击而失色。含糖基的黄盐阳离子只有在强酸介质中才能保持稳定,但是花瓣细胞在正常情况下只显弱酸性,如果只有花青素苷存在,花瓣不可能形成稳定的颜色。在花瓣中与花青素苷共存的多酚是一种辅色剂,它通过氢键和疏水键与花色苷形成复合物,使花色苷稳定性提高(邵信儒2016)。多酚与花色苷形成的复合物使花色苷对光的吸收在可见光区明显红移,使其吸光系数增大。与花青素苷共同着色的色素种类及含量可直接影响植物花色。黄酮醇合成酶(flavonol synthase, FLS)既可通过底物竞争方式影响花青素苷的生物合成,也可以通过影响助色素合成而改变花色。在矮牵牛中,FLS改变了黄酮醇与花青素苷的比例,最终使花色发生改变,从矮牵牛中克隆并过表达FLS基因可以使转基因株系花色变深,反义表达该基因则使花色明显变淡(Holton等1993)。

#### 3.2 金属离子的络合作用对花青素苷在植物器官中呈色的影响

金属离子对花青素苷的生物合成也有很大的影响。一些紫色花瓣郁金香(*Tulipa × gesneriana*)品种的花被下部呈现蓝色,其蓝色和紫色区域具有相同的花青素苷(飞燕草素-3-芸香苷)和黄酮醇,液泡内pH值也很相似,但是蓝色区域Fe<sup>3+</sup>浓度是紫色区域的25倍(Shoji等2007)。位于液泡膜上的Fe<sup>3+</sup>转运体蛋白(*TgVit1*)基因在紫色郁金香花瓣中瞬间表达导致一些细胞变为蓝色(Momonoi等2009),促进*TgVit1*表达并且抑制*Tgfer1*(一种Fe<sup>3+</sup>储存蛋白基因)表达从而导致紫色郁金香花被下部呈现蓝色



(Shoji等2010)。蓝色矢车菊(*Centaurea cyanus*)花瓣细胞中由于 $Fe^{3+}$ 转运基因*CcVIT*发生了氨基酸取代(A236E),从而使其花瓣颜色变为了紫色(Yoshida和Negishi 2013)。在红、蓝两色共存的八仙花(*Hydrangea macrophylla*)品种中,蓝色花瓣细胞中 $Al^{3+}$ 含量是红色花瓣细胞中 $Al^{3+}$ 含量的40倍,因此,八仙花花色改变可能与 $Al^{3+}$ 浓度相关(Ito等2009)。

### 3.3 分子堆积作用对花青素苷在植物器官中呈色的影响

花青素苷与有机酸酰基化后能有效地保护花青素苷母核阳离子免受水分子的攻击而失色。由于花青素苷上的糖链与有机酸酰化后形成有机大分子,所以这种作用又被称为分子内辅助着色。分子内辅助着色机理的典型模式是花青素苷的“三明治”构型(图4)。酰化花青素苷的有机酸与糖链相连,而这些糖链是可折叠的,将有机酸置于2-苯基苯并吡喃骨架的表面,这种堆积作用能够较好地抗水的亲核攻击和其他类型的降解反应,因而提高了花青素苷的稳定性(邵信儒2016)。花青素苷与两个有机酸形成的双酰化花青素苷比一个有机酸形成的单酰化花青素苷稳定,其原因是酰基平面芳香族残基和花青素苷核之间疏水作用力形成层状结构,较好地保护了夹在两个有机酸中间的花青素苷核,而单酰化花青素苷仅有一侧能防止亲核基团的攻击。此外糖分子上的酰基基团位

置不同也能影响花青素苷的稳定性。在糖C6位上的酰基基团能自由旋转,允许分子折叠和分子内堆积。灵活的糖链能使酰基芳香环折叠到吡喃环上,分子的堆积现象对花青素苷有保护作用,能够提高其稳定性(邵信儒2016)。

### 3.4 液泡pH对花青素苷在植物器官中呈色的影响

花青素苷在水溶液中以黄盐阳离子、酮型碱、假碱、查尔酮形式存在,这4种形式随水溶液的pH变化而发生可逆变化,同时溶液的颜色也随结构改变而改变。当溶液的pH小于2时,花青素苷以黄盐阳离子形式存在,溶液显红色。当pH逐渐升高,花青素苷失去C环氧上的阳离子变成蓝色酮型碱。酮型碱在酸性溶液中与黄盐阳离子之间可逆变化。随着溶液pH进一步升高,酮型碱变为假碱,此时花青素苷的溶液呈无色,假碱与查尔酮也可逆转化(邵信儒2016)。野生型牵牛开花前由于钠离子和钾离子反向转运体蛋白的作用使液泡内pH由6.6升至7.7,其花色由紫色变为蓝色(Yoshida等2009); Zhang等(2014)研究发现低pH可以促进苹果属观赏海棠(*Malus spp.*)叶片中花青素苷的积累。因此,液泡pH对花青素苷在植物器官中的呈色具有决定性的作用。

## 4 环境因子调控植物花青素苷合成的机理

植物花青素苷的生物合成是内因和外因共同

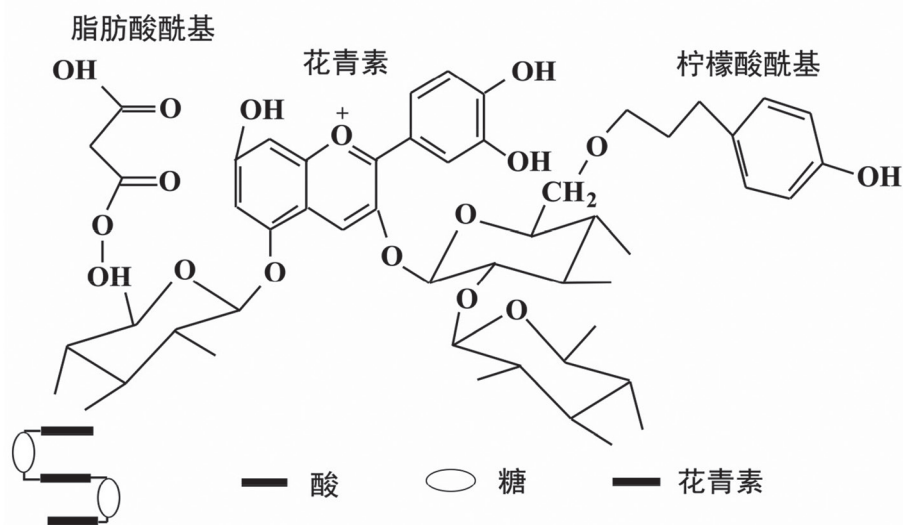


图4 花青素苷的“三明治”构型  
Fig.4 “Sandwich” configuration of anthocyanin

作用的结果,花青素苷生物合成相关基因决定了植物体内花青素苷的种类,而环境因子既可以影响花青素苷生物合成的速率,还可以对其积累量和稳定性产生作用。影响花青素苷合成的外界环境因子主要包括光、温度、糖和激素等(David 2000)。高辐射、UV蓝光、低温能够促进花青素苷的合成,高温能够诱导花青素苷的降解(Qiu等2016; Movahed等2016; 胡可等2010)。

#### 4.1 光对植物花青素苷合成的调控作用

光是影响植物花青素苷积累的重要环境因素之一。对茄子进行不透光套袋处理可以产生白色的果实(Liu等2018)。高光强可以诱导许多植物花青素苷的累积(Maier和Hoecker 2015)。除了光强外,光质也会影响花青素苷的生物合成。UV光处理后*VcMYB21*在蓝莓叶片花青素苷积累过程及果实着色过程中可能发挥着负调控作用(刘中帅等2017)。远红光能够抑制植物花青素苷的生物合成(Li和Kubota 2009)。

#### 4.2 温度对植物花青素苷合成的调控作用

温度是植物花青素苷积累的另一个重要的决定因子。低温可以诱导茄科植物花青素苷的积累(Jiang等2016; Liu等2018)。由于低温条件下植物花青素苷的生物合成需要光诱导,因此推测低温和光可能通过相同的机制对花青素苷的生物合成进行调控(Xu等2015)。在茄子中,花青素苷合成上游基因群(*SmCHS*、*SmCHI*和*SmF3H*)在低温诱导下比下游基因群(*SmF3'5H*、*SmDFR*和*SmANS*)响应更早(Jiang等2016)。

高温可以通过抑制植物花青素苷合成激活物和相关结构基因的表达和/或促进花青素苷合成阻遏物的表达来降低植物中花青素苷的积累。高温可以诱导李子(*Prunus salicina*)果实中花青素苷的降解(Niu等2017)。矮牵牛过表达编码葡萄(*Vitis vinifera*) III类过氧化物酶的*VviPrx31*,转基因矮牵牛花瓣中花青素苷的含量在热胁迫下减少,表明高温可以促进有活性的花青素苷降解(Movahed等2016)。高温依赖性花青素苷浓度的降低与III类过氧化物酶的活性增加和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>水平升高有关,施用过氧化物酶抑制剂后,花青素苷含量在各种温度处理下均上升(Liu等2018)。

#### 4.3 糖对植物花青素苷合成的调控作用

糖对花青素苷合成的调控主要有两个原因:

其一,花青素苷分子是由糖和花青素组成的;其二,花青素苷合成所需要的前体是从莽草酸途径产生的,而莽草酸的形成依赖于旺盛的戊糖呼吸,而戊糖呼吸的活跃需要有充足的糖。在葡萄果实中,高浓度的蔗糖能够促进花青素苷的积累(Lotkowska等2015)。Payyavula等(2013)发现蔗糖处理可以提高番茄花青素苷的含量。蔗糖不仅可以调控花青素苷合成相关的结构基因,还可以特异性地调控其调节基因。拟南芥经外源蔗糖、葡萄糖和果糖处理12 h后,花青素苷合成相关结构基因(如*CHS*、*CHI*、*F3H*、*F3'H*、*DFR*和*LDQZ*)和*PAP1*的表达量均明显上调(Solfanelli等2006)。拟南芥在高浓度蔗糖培养基上*PAP1*的转录水平显著增加,而在低浓度蔗糖培养基上*MYB112*的转录水平变化不显著(Lotkowska等2015)。

#### 4.4 激素对植物花青素苷合成的调控作用

激素也是影响植物花青素苷合成的重要因子之一。生长素在植物愈伤组织花青素苷合成中起着重要的作用。外源2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)或萘乙酸(1-naphthylacetic acid, NAA)处理葡萄果实可以抑制花青素苷生物合成结构基因的表达(Ban等2003; Jeong等2004)。Zhou等(2008)在过表达*AtPAP1*基因的烟草愈伤组织中发现高浓度的2,4-D或NAA可以抑制花青素苷的合成,而红肉苹果愈伤组织中花青素苷的积累也受到高浓度的2,4-D或NAA的抑制(Ji等2015)。与此作用相反,拟南芥幼苗经外源吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)处理后,其花青素苷合成途径相关的结构基因(*CHS*、*CHI*和*F3'H*)和调节基因(*TTG1*、*PAP1*和*MYB12*)的表达量均有增加,说明在一定浓度范围内生长素对花青素苷合成具有一定的促进作用(Lewis等2011)。

细胞分裂素不仅能够促进多种植物组织培养过程中花青素苷的积累,还能对植物部分器官花青素苷的积累具有促进作用,如外源细胞分裂素处理能促进拟南芥和苹果果肉花青素苷的积累(Das等2012b; Ji等2015)。与之相反,还有一些研究表明细胞分裂素可以负调控花青素苷的生物合成。6-苄氨基腺嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA)和*N*-(2-氯-4-吡啶基苯)-*N'*-苯基脲[*N*-(2-chloro-4-pyridyl)-*N'*-phenylurea, CPPU]处理荔枝果实也可抑制荔枝果皮花青素苷积累(Wei等2011; Lai等2014); 6-BA



处理可以显著抑制非绿色玉米叶片蔗糖诱导的花青素苷合成(Kim等2006)。这些差异可能是由于细胞分裂素对花青素苷的合成调控具有浓度特异性。

赤霉素对植物花青素苷的生物合成具有重要影响。外源赤霉素(gibberellin A<sub>3</sub>, GA<sub>3</sub>)处理可以诱导矮牵牛花冠*CHS*基因的表达,促进花青素苷的积累(Weiss等1995)。但也有报道表明赤霉素抑制植物花青素苷的生物合成,胡萝卜(*Daucus carota* subsp. *sativus*)悬浮培养细胞经外源GA<sub>3</sub>处理后其花青素苷的合成受到显著抑制(Ilan和Dougall 1992)。拟南芥*gal-5*突变体由于内源赤霉素含量大大降低激活了花青素苷生物合成的基因,从而使其花青素苷含量显著增加(Loreti等2008)。在矮牵牛花青素苷合成途径中,赤霉素首先启动*bHLH* (*an1*)和*MYB* (*an2*)基因的表达,然后使其与启动子上的顺式作用元件结合激活花青素苷合成通路上结构基因,从而促进花青素苷的合成(David 2000)。

外源脱落酸(abscisic acid, ABA)处理可以诱导葡萄果皮和细胞悬浮系花青素苷合成结构基因和调节基因的表达,促进花青素苷的积累(Jeong等2004)。外源ABA喷洒处理葡萄能够促进花青素苷的合成积累(Kim等2006)。ABA可以显著促进非跃变型果实花青素苷的积累,如葡萄、樱桃(*Prunus avium*)、草莓(*Fragaria* × *ananassa*)和荔枝,而对跃变型果实(如苹果)的促进作用不显著(Jeong等2004; Wei等2011; Lai等2014; Shen等2014)。采用病毒诱导的基因沉默(virus-induced gene silencing, VIGS)技术使甜樱桃果实内源ABA含量降低,同时花青素苷合成相关基因的表达水平及其含量均发生了降低,表明ABA可以作为信号分子促进甜樱桃果实成熟过程中花青素苷的积累(Shen等2014)。

乙烯在果实成熟过程中起重要调控作用,而许多植物在果实成熟过程中都伴随着花青素苷的积累,因此,乙烯可能对果实花青素苷的生物合成有重要的调控作用。葡萄果实经乙烯利处理后,花青素苷合成的结构基因(*CHS*、*F3H*、*LDOX*和*UFGT*)表达量升高,花青素苷含量增加(El-Kereamy等2003)。与之相反,高树林等(2015)用乙烯处理牡丹(*Paeonia Suffruticosa*)切花,发现其花瓣花青素苷含量下降;烟草中过表达甜瓜(*Cucumis melo*)乙烯受体的突变基因(*Cm-ETR1/H69A*),转基因植株花瓣中的花青素苷含量增加,表明乙烯对花青素苷的生物合成

起到抑制作用(Takada等2005)。乙烯抑制花青素苷积累常常通过在转录水平下调正调控转录因子*bHLHs* (*GL3*、*EGL3*和*TT8*)和*MYBs* (*PAP1*和*PAP2*)以及上调负调控转录因子*MYBL2* (Das等2012a)。拟南芥经乙烯处理后花青素苷合成的正调节基因(*TT8*、*GL3*和*PAP1*)表达受到抑制,负调控基因*MYBL2*的表达升高,从而导致青素苷合成受到抑制(Jeong等2010)。

茉莉酸家族包括茉莉酸、茉莉酸前体环戊烷和环戊烯酮,在植物花青素苷的生物合成过程中起着调控作用。茉莉酸甲酯能够促进紫背天葵菜(*Gynura bicolor*)根部、苹果果实和草莓果实中花青素苷的生物合成(Shimizu等2010; Feng等2017; Moreno等2010)。茉莉酸甲酯处理后,李属砧木的体外芽培养物中总花青素苷的含量显著增加(Lucioli等2017)。Qian等(2014)发现茉莉酸甲酯处理后的梨果实与水处理相比花青素苷的含量更高。Loreti等(2008)研究发现在拟南芥中茉莉酸处理可以促进蔗糖诱导的花青素苷积累。拟南芥经茉莉酸处理可以上调花青素苷生物合成的下游基因(*DFR*、*LDOX*和*UF3GT*)和调节基因(*PAP1*、*PAP2*和*GL3*),从而促进拟南芥子叶和胚轴中的花青素苷含量(Shan等2009)。

除了光、温度、糖和激素以外,肥料、干旱、病害等因素也会影响花青素苷的合成和积累(邵信儒2016)。低氮可以促进花青素的积累,高氮则会抑制花青素的生物合成(Rubin等2009; Liang和He 2018)。硝酸盐主要通过降低*AtPAP*基因的表达来抑制花青素的积累,还可以诱导*LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN* (*LBD*)基因家族成员的表达,而该家族成员可以负调控*AtPAP*基因进而调节花青素的积累(Rubin等2009)。Wang等(2018)研究表明硝酸盐响应蛋白MdBT2可以通过与转录因子MdMYB1互作进而调控花青素的生物合成。拟南芥在氮磷缺乏时可以诱导*PAP1*的表达进而影响植物体内花青素的产生(Lillo等2008)。Rahimi等(2013)研究表明,与对照相比,锌和氮的施用显著增加和减少了芫荽(*Coriandrum sativum*)叶中的花青素含量,而磷和钾对花青素含量的积累有负面效应。紫叶桃(*Prunus persica* 'Atropurpurea')叶面喷施锰和锌20 d后其花青素含量增加,且花青素含量与喷施锰含量呈极显著正相关,而紫叶桃

叶面喷施铁元素后花青素的生物合成受到抑制(Li等2010)。在干旱条件下,棉花(*Gossypium* spp.)花青素的含量比正常情况下的含量提高了4倍,玉米品种的花青素含量在干旱条件下也显著上升(Efeoglu等2008; Rubin等2009)。Nakabayashi等(2014)研究表明,干旱处理可以提高花青素的含量进而缓解干旱。干旱处理可以通过促进花青素合成相关基因如*TaCHS*、*TaCHI*、*TaF3H*、*TaFNS*、*TaFLS*、*TaDFR*、*TaANS*的表达来提高小麦(*Triticum aestivum*)叶片花青素的含量(Ma等2014)。在干旱条件下生长的葡萄成熟果实中花青素的含量显著上升(Castellarin等2007)。越橘(*Vaccinium myrtillus*)被对位噬菌体(*Paraphaeosphaeria* sp.)和灰葡萄孢霉(*Botrytis cinerea*)感染后,与类黄酮生物合成相关基因均被激活,且越橘对内生菌的防御反应比病原体快(Koskimäki等2009)。病原体的感染促进了表没食子儿茶素、槲皮素-3-葡萄糖苷、槲皮素-3-O- $\alpha$ -鼠李糖苷、绿原酸和香豆酰奎尼酸的特异性积累。内生菌感染的植物具有较高含量的槲皮素-3-葡萄糖苷酸和香豆酰基环烯醚萜(Koskimäki等2009)。*Delila*和*Roseal*番茄突变体中花青素生物合成相关基因上调表达,花青素的含量上升,其对灰霉病的抗性降低(Zhang等2013)。马铃薯块茎中花青素5-O-葡萄糖基转移酶的异位表达可以增强植物对细菌感染的抗性(Lorenc-Kukula等2005)。酮类化合物具有很好的抗氧化活性,这可能与其抗真菌活性有关(Goodman等2004; Iriti等2004)。与青芒果(*Mangifera indica*)果实相比,红芒果果实对炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)的感染具有更强的抗性并且显著更小的衰变区域。因此,病害也会影响植物花青素的生物合成与积累(Sivankalyani等2016)。

## 5 问题与展望

花青素苷作为一种分布广、种类多、安全性高、无毒的天然色素,在医药、化妆、食品行业中都有着重要的应用。由于花青素苷突出的药用价值和营养价值以及在基因工程改良观赏植物花色中的巨大经济价值,未来对花青素苷生物合成分子调控机制的研究仍将是现代分子生物技术领域的热点问题。近年来,关于花青素苷的生物合成及分子调控机制的研究已经取得了较大的进展,但还有许多问题有待阐明。

### 5.1 花青素苷生物合成后期修饰过程中关键基因的发掘

花青素苷种类取决于其合成后的修饰过程,并且不同物种间存在显著差异,这与花青素苷生物合成途径及调控机理的保守性完全不同。对于这一问题,今后应在不断挖掘新基因的同时,着重加强不同植物间的特异性和共性分析,找出花青素苷代谢的共性规律和物种特异性产生的原因。

### 5.2 花青素苷合成调控基因在植物基因工程领域中的拓展应用

花青素苷合成调控基因可以作为一种遗传转化的报告基因,它不需任何仪器及组织化学染色,肉眼即可观察,方便实用。除了作为报告基因,许多花青素苷合成调控基因还可以改变植物不同器官和组织的颜色以及增强植物抗逆境的能力。因此,花青素苷合成调控基因在植物基因工程领域的应用前景同样非常广泛,需要我们筛选出适合应用的候选基因。

### 5.3 影响花青素苷生物合成的各项因素之间的调控网络解析

花青素苷的生物合成受多种因素的影响,如光照、温度、蔗糖、pH、各种激素,各种因素如何协调作用调控花青素苷的生物合成仍不清楚。只有清楚了解各因素对花青素苷生物合成的调控及其不同因素之间的相互作用机制,才能更好地应用这些因素调控植物花青素苷的生物合成。

### 5.4 对花青素苷生物合成的相关机理进行系统生物学研究

高通量测序技术因其具有速度快、成本低、覆盖度深的特点使其在生命科学研究领域得到广泛应用。该技术的出现,极大地推动了植物分子生物学的研究进程。组学研究涉及核酸、蛋白、代谢物、表型等各个层次,包括基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学、全基因组甲基化学等,已成为系统生物学研究的重要方向。利用系统生物学研究花青素苷生物合成的机理,可以深入、全面地解析花青素苷的生物合成机理。

现在人类已经从20世纪的抗生素、维生素时代进入到21世纪的花青素苷时代。深入研究这些问题对理解植物花青素苷合成调控机制,利用基因工程开展作物遗传改良具有重要的理论指导意义。

## 参考文献(References)

- Ban T, Ishimaru M, Kobayashi S, et al (2003). Abscisic acid and 2,4-dichloroethoxyacetic acid affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in 'Kyoho' grape berries. *J Hortic Sci Biotech*, 78 (4): 586–589
- Barbagallo RN, Palmeri R, Fabiano S, et al (2007). Characteristic of  $\beta$ -glucosidase from Sicilian blood oranges in relation to anthocyanin degradation. *Enzyme Microb Tech*, 41: 570–575
- Bendahmane M, Dubois A, Raymond O, et al (2013). Genetics and genomics of flower initiation and development in roses. *J Exp Bot*, 64 (4): 847–857
- Borevitz JO, Xia Y, Blount J, et al (2000). Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Cell*, 12: 2383–2393
- Carey CC, Strahle JT, Selinger DA, et al (2004). Mutations in the *pale aleurone color1* regulatory gene of the *Zea mays* anthocyanin pathway have distinct phenotypes relative to the functionally similar *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* gene in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 16: 450–464
- Castellarin SD, Pfeiffer A, Sivilotti P, et al (2007). Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant Cell Environ*, 30 (11): 1381–1399
- Dai SL, Hong Y (2016). Molecular breeding for flower colors modification on ornamental plants based on the mechanism of anthocyanins biosynthesis and coloration. *Sci Agr Sin*, 49 (3): 529–542 (in Chinese with English abstract) [戴思兰, 洪艳(2016). 基于花青素苷合成和呈色机理的观赏植物花色改良分子育种. *中国农业科学*, 49 (3): 529–542]
- Das PK, Shin DH, Choi SB, et al (2012a). Sugar-hormone cross-talk in anthocyanin biosynthesis. *Mol Cells*, 34: 501–507
- Das PK, Shin DH, Choi SB, et al (2012b). Cytokinins enhance sugar-induced anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Mol Cells*, 34: 93–101
- David W (2000). Regulation of flower pigmentation and growth: multiple signaling pathways control anthocyanin synthesis in expanding petals. *Physiol Plant*, 110: 152–157
- Dong W, Niu L, Gu J, et al (2014). Isolation of a WD40-repeat gene regulating anthocyanin biosynthesis in storage roots of purple-fleshed sweet potato. *Acta Physiol Plant*, 36: 1123–1132
- Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al (2010). MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 15 (10): 573–581
- Efeoğlu B, Ekmekçi Y, Çiçek N (2008). Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *S Afr J Bot*, 75 (1): 34–42
- El-Kereamy A, Chervin C, Roustan JP, et al (2003). Exogenous ethylene stimulates the long-term expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in grape berries. *Physiol Plant*, 119 (2): 175–182
- Feng S, Sun J, Sun S, et al (2017). Transcriptional profiles underlying the effects of methyl jasmonate on apple ripening. *J Plant Growth Regul*, 36: 271–280
- Gao SL, Zhang C, Du DN, et al (2015). Effect of glucose and ethylene on flower color and anthocyanin biosynthesis in tree peony 'Luoyanghong' cut flower. *Acta Hort Sin*, 42 (7): 1356–1366 (in Chinese with English abstract) [高树林, 张超, 牡丹妮(2015). 乙烯和葡萄糖处理对'洛阳红'牡丹切花花色和花青素苷合成的影响. *园艺学报*, 42 (7): 1356–1366]
- Goodman CD, Casati P, Walbot V (2004). A multidrug resistance-associated protein involved in anthocyanin transport in *Zea mays*. *Plant Cell*, 16 (7): 1812–1826
- Gou JY, Felippes FF, Liu CJ, et al (2011). Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* by a miR156-targeted SPL transcription factor. *Plant Cell*, 23 (4): 1512–1522
- He X, Zhao X, Gao LP, et al (2018). Isolation and characterization of key genes that promote flavonoid accumulation in purple-leaf tea (*Camellia sinensis* L.). *Sci Rep*, 8: 130
- Heine GF, Hernandez JM, Grotewold E (2004). Two cysteines in plant R2R3 MYB domains participate in REDOX-dependent DNA binding. *J Biol Chem*, 279: 37878–37885
- Holton TA, Brugliera F, Tanaka Y (1993). Cloning and expression of flavonol synthase from *Petunia hybrida*. *Plant J*, 4 (6): 1003–1010
- Hu DG, Sun CH, Zhang QY, et al (2016). Glucose sensor MdHXX1 phosphorylates and stabilizes MdbHLH3 to promote anthocyanin biosynthesis in apple. *PLoS Genet*, 12 (8): e1006273
- Hu K, Han KT, Dai SL (2010). Regulation of plant anthocyanin synthesis and pigmentation by environmental factors. *Chin Bull Bot*, 45 (3): 307–317 (in Chinese with English abstract) [胡可, 韩科厅, 戴思兰(2010). 环境因子调控植物花青素苷合成及呈色的机理. *植物学报*, 45 (3): 307–317]
- Ilan A, Dougall DK (1992). The effect of growth retardants on anthocyanin production in carrot cell suspension cultures. *Plant Cell Rep*, 11: 304–309
- Iriti M, Rossoni M, Borgo M, et al (2004). Benzothiadiazole enhances resveratrol and anthocyanin biosynthesis in grapevine, meanwhile improving resistance to *Botrytis cinerea*. *J Agr Food Chem*, 52: 4406–4413
- Ito D, Shinkai Y, Kato Y, et al (2009). Chemical studies on different color development in blue-and red-colored sepal cells of *Hydrangea macrophylla*. *Biosci Biotech Bioch*, 73 (5): 1054–1059



- Jeong ST, Goto-Yamamoto N, Kobayashi S, et al (2004). Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. *Plant Sci*, 167 (2): 247–252
- Jeong SW, Das PK, Jeoung SC, et al (2010). Ethylene suppression of sugar-induced anthocyanin pigmentation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 154: 1515–1531
- Ji XH, Wang YT, Zhang R, et al (2015). Effect of auxin, cytokinin and nitrogen on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*). *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 120: 325–337
- Jiang M, Liu Y, Ren L, et al (2016). Molecular cloning and characterization of anthocyanin biosynthesis genes in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Acta Physiol Plant*, 38: 163
- Kay CD, Kroon PA, Cassidy A (2009). The bioactivity of dietary anthocyanins is likely to be mediated by their degradation products. *Mol Nutr Food Res*, 53: S92–S101
- Kim JS, Lee BH, Kim SH, et al (2006). Response to environmental and chemical signals for anthocyanin biosynthesis in non-chlorophyllous corn (*Zea mays* L.) leaf. *J Plant Biol*, 49 (1): 16–25
- Koskimäki JJ, Hokkanen J, Jaakola L, et al (2009). Flavonoid biosynthesis and degradation play a role in early defence responses of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) against biotic stress. *Eur J Plant Pathol*, 125: 629–640
- Lai B, Li XJ, Hu B, et al (2014). *LcMYB1* is a key determinant of differential anthocyanin accumulation among genotypes, tissues, developmental phases and ABA and light stimuli in *Litchi chinensis*. *PLoS ONE*, 9: e86293
- Lewis DR, Ramirez MV, Miller ND, et al (2011). Auxin and ethylene induce flavonol accumulation through distinct transcriptional networks. *Plant Physiol*, 156 (1): 144–164
- Li Q, Kubota C (2009). Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environ Exp Bot*, 67: 59–64
- Li Q, Zhao P, Li J, et al (2014). Genome-wide analysis of the WD-repeat protein family in cucumber and *Arabidopsis*. *Mol Genet Genomics*, 289: 103–124
- Li S, Wang W, Gao J, et al (2016). MYB75 phosphorylation by MPK4 is required for light-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 28: 2866–2883
- Li W, Wang B, Wang M, et al (2013). Cloning and characterization of a potato *StAN11* gene involved in anthocyanin biosynthesis regulation. *J Integr Plant Biol*, 56: 364–372
- Li X, Hu J, Wang Q, et al (2010). Effects of spraying microelement on anthocyanin and the relevant biosynthesis enzymes in *Prunus persica* f. *atropurpurea* leaves. *Sci Silv Sin*, 46 (12): 75–79 (in Chinese with English abstract) [李雪飞, 胡静静, 王庆菊等(2010). 微量元素喷施对紫叶桃叶片花色昔含量及其合成酶活性的影响. *林业科学*, 46 (12): 75–79]
- Li XL, Zhang MS, Ren MJ, et al (2017). Molecular regulation mechanism of anthocyanin synthesis in purple wheat. *Plant Physiol J*, 53 (4): 521–530 (in Chinese with English abstract) [李小兰, 张明生, 任明见等(2017). 紫粒小麦花青素合成分子调控机制研究进展. *植物生理学报*, 53 (4): 521–530]
- Li YY, Mao K, Zhao C, et al (2012). MdCOP1 ubiquitin E3 ligases interact with MdMYB1 to regulate light-induced anthocyanin biosynthesis and red fruit coloration in apple. *Plant Physiol*, 160 (2): 1011–1022
- Liang J, He J (2018). Protective role of anthocyanins in plants under low nitrogen stress. *Biochem Bioph Res Co*, 498 (4): 946–953
- Lillo C, Lea US, Ruoff P (2008). Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant Cell Environ*, 31: 587–601
- Liu XJ, Chuang YN, Chiou CY, et al (2012). Methylation effect on chalcone synthase gene expression determines anthocyanin pigmentation in floral tissues of two *Oncidium orchid* cultivars. *Planta*, 236 (2): 401–409
- Liu XY, Han HQ, Ge HY, et al (2014). Cloning, expression and interaction of anthocyanin-related transcription factors *SmTTG1*, *SmGL3* and *SmTT8* in eggplant. *Acta Horticult Sin*, 41 (11): 2241–2249 (in Chinese with English abstract) [刘新宇, 韩洪强, 葛海燕(2014). 茄子花青素合成中 *SmTTG1*、*SmGL3* 和 *SmTT8* 的表达及其蛋白质间的相互作用. *园艺学报*, 41 (11): 2241–2249]
- Liu Y, Hou H, Jiang X, et al (2018). A WD40 repeat protein from *Camellia sinensis* regulates anthocyanin and proanthocyanidin accumulation through the formation of MYB–bHLH–WD40 ternary complexes. *Int J Mol Sci*, 19 (6): 1686
- Liu Y, Tikunov Y, Schouten RE, et al (2018). Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in *Solanaceous* vegetables: a review. *Front Chem*, 6: 52
- Liu Y, Zheng TC, Dai LJ, (2017). Construction of plant expression vector and genetic transformation analysis of *Arabidopsis thaliana AtPAP1* gene in *Nicotiana tabacum*. *Plant Physiol J*, 53 (7): 1199–1207 (in Chinese with English abstract) [刘轶, 郑唐春, 代丽娟等(2017). 拟南芥 *AtPAP1* 基因植物表达载体构建及在烟草中遗传转化分析. *植物生理学报*, 53 (7): 1199–1207]
- Liu ZS, Yuan YH, Zhang T (2017). Expression characteristics of the transcription factor *VcMYB21* in blueberry fruit coloration and response to UV in seedling. *Plant Physiol J*, 53 (1): 115–125 (in Chinese with English abstract) [刘中帅, 袁义杭, 张通等(2017). 蓝莓转录因子 *VcMYB21* 在果实着色及幼苗UV处理中的响应. *植物生理学报*, 53 (1): 115–125]
- Lorenc-Kukula K, Jafra S, Oszmiański J, et al (2005). Ectopic

- expression of anthocyanin 5-*O*-glucosyltransferase in potato tuber causes increased resistance to bacteria. *J Agr Food Chem*, 53: 272–281
- 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*. *New Phytol*, 179: 1004–1016
- Lotkowska ME, Tohge T, Fernie AR, et al (2015). The *Arabidopsis* transcription factor MYB112 promotes anthocyanin formation during salinity and under high light stress. *Plant Physiol*, 169: 1862–1880
- Lucioli S, Di Bari CD, Nota P, et al (2017). Methyl jasmonate promotes anthocyanins' production in *Prunus salicina* × *Prunus persica* *in vitro* shoot cultures. *Plant Biosyst*, 151: 788–791
- Ma D, Sun D, Wang C, et al (2014). Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiol Bioch*, 80: 60–66
- Maier A, Hoecker U (2015). COP1/SPA ubiquitin ligase complexes repress anthocyanin accumulation under low light and high light conditions. *Plant Signal Behav*, 10: e970440
- Momono K, Yoshida K, Mano S, et al (2009). A vacuolar iron transporter in tulip, *TgVit1*, is responsible for blue coloration in petal cells through iron accumulation. *Plant J*, 59 (3): 437–447
- Moreno FP, Monagas M, Blanch GP, et al (2010). Enhancement of anthocyanins and selected aroma compounds in strawberry fruits through methyl jasmonate vapor treatment. *Eur Food Res Technol*, 230: 989–999
- Morita Y, Saito R, Ban Y, et al (2012). Tandemly arranged *chalcone synthase A* genes contribute to the spatially regulated expression of siRNA and the natural bicolor floral phenotype in *Petunia hybrida*. *Plant J*, 70: 739–749
- Movahed N, Pastore C, Cellini A, et al (2016). The grapevine VviPrx31 peroxidase as a candidate gene involved in anthocyanin degradation in ripening berries under high temperature. *J Plant Res*, 129: 513–526
- Nakabayashi R, Mori T, Saito K (2014). Alternation of flavonoid accumulation under drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*, 9: e29518
- Nakatsuka T, Sasaki N, Nishihara M (2014). Transcriptional regulators of flavonoid biosynthesis and their application to flower color modification in Japanese gentians. *Plant Biotechnol*, 31: 389–399
- Nemesio-Gorriz M, Blair PB, Dalman K, et al (2017). Identification of Norway spruce MYB-bHLH-WDR transcription factor complex members linked to regulation of the flavonoid pathway. *Front Plant Sci*, 8: 305
- Niu J, Zhang G, Zhang W, et al (2017). Anthocyanin concentration depends on the counterbalance between its synthesis and degradation in plum fruit at high temperature. *Sci Rep*, 7: 7684
- Ohno S, Hosokawa M, Kojima M, et al (2011). Simultaneous post-transcriptional gene silencing of two different chalcone synthase genes resulting in pure white flowers in the octoploid dahlia. *Planta*, 234: 945–958
- Oren-Shamir M (2009). Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants? *Plant Sci*, 177: 310–316
- Passamonti S, Vrhovsek U, Mattivi F (2002). The interaction of anthocyanins with bilitranslocase. *Biochem Bioph Res Co*, 296 (3): 631–636
- Pauwels L, Goossens A (2011). The JAZ proteins: a crucial interface in the jasmonate signaling cascade. *Plant Cell*, 23: 3089–3100
- Payyavula RS, Singh RK, Navarre DA (2013). Transcription factors, sucrose, and sucrose metabolic genes interact to regulate potato phenylpropanoid metabolism. *J Exp Bot*, 64: 5115–5131
- Pireyre M, Burow M (2015). Regulation of MYB and bHLH transcription factors: a glance at the protein level. *Mol Plant*, 8 (3): 378–388
- Qi T, Wang J, Huang H, et al (2015). Regulation of jasmonate-induced leaf senescence by antagonism between bHLH subgroup IIIe and IIIId factors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 27: 1634–1649
- Qian M, Yu B, Li X, et al (2014). Isolation and expression analysis of anthocyanin biosynthesis genes from the red Chinese sand pear, *Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Mantianhong, in response to methyl jasmonate treatment and UV-B/VIS conditions. *Plant Mol Biol Rep*, 32: 428–437
- Qian MJ, Sun Y, Allan AC, et al (2014). The red sport of 'Zaosu' pear and its red-striped pigmentation pattern are associated with demethylation of the *PyMYB10* promoter. *Phytochemistry*, 107: 16–23
- Qiu Z, Wang X, Gao J, et al (2016). The tomato *Hoffman's anthocyaninless* gene encodes a bHLH transcription factor involved in anthocyanin biosynthesis that is developmentally regulated and induced by low temperatures. *PLoS ONE*, 11: e0151067
- Rahimi AR, Babaei S, Mashayekhi K, (2013). Anthocyanin content of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves as affected by salicylic acid and nutrients application. *Int J Biosci*, 3 (2): 141–145
- Rubin G, Tohge T, Matsuda F, et al (2009). Members of the LBD family of factors repress anthocyanin synthesis and affect additional nitrogen responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 3567–3584
- Shan X, Zhang Y, Peng W, et al (2009). Molecular mechanism for jasmonate-induction of anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 60 (13): 3849–3860
- Shao X (2016). Natural Plant Anthocyanins of Changbai

- Mountain. Changchun: Jilin University Press (in Chinese) [邵信儒(2016). 长白山天然植物花色昔. 长春: 吉林大学出版社]
- Shen X, Zhao K, Liu L, et al (2014). A role for PacMYBA in ABA-regulated anthocyanin biosynthesis in red-colored sweet cherry cv. Hong Deng (*Prunus avium* L.). *Plant Cell Physiol*, 55 (5): 862–880
- Shimizu Y, Maeda K, Kato M, et al (2010). Methyl jasmonate induces anthocyanin accumulation in *Gynura bicolor* cultured roots. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 46: 460–465
- Shin DH, Choi MG, Kim K, et al (2013). HY5 regulates anthocyanin biosynthesis by inducing the transcriptional activation of the MYB75/PAP1 transcription factor in *Arabidopsis*. *FEBS Lett*, 587 (10): 1543–1547
- Shoji K, Miki N, Nakajima N, et al (2007). Perianth bottom-specific blue color development in tulip cv. Mura-sakizuisho requires ferric ions. *Plant Cell Physiol*, 48 (2): 243–251
- Shoji K, Momonoi K, Tsuji T (2010). Alternative expression of vacuolar iron transporter and ferritin genes leads to blue/purple coloration of flowers in Tulip cv. 'Mura-sakizuisho'. *Plant Cell Physiol*, 51 (2): 215–224
- Sivankalyani V, Feygenberg O, Diskin S, et al (2016). Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. *Post-harvest Biol Tec*, 111: 132–139
- Solfanelli C, Poggi A, Loreti E, et al (2006). Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 140 (2): 637–646
- Stommel JR, Dumm JM (2015). Coordinated regulation of biosynthetic and regulatory genes coincides with anthocyanin accumulation in developing eggplant fruit. *J Amer Soc Hort Sci*, 140 (2): 129–135
- Takada K, Ishimaru K, Minamisawa K, et al (2005). Expression of a mutated melon ethylene receptor gene *Cm-ETR1/H69A* affects stamen development in *Nicotiana tabacum*. *Plant Sci*, 169: 935–942
- Tominaga-Wada R, Ota K, Hayashi N, et al (2017). Expression and protein localization analyses of *Arabidopsis* *GLABRA3 (GL3)* in tomato (*Solanum lycopersicum*) root epidermis. *Plant Biotechnol*, 34: 115–117
- Wang H, Li MF, Yang Y, et al (2015). Recent advances on the molecular mechanisms of anthocyanin synthesis in fruits. *Plant Physiol J*, 51 (1): 29–43 (in Chinese with English abstract) [王华, 李茂福, 杨媛等(2015). 果实花青素生物合成分子机制研究进展. *植物生理学报*, 51 (1): 29–43]
- Wang XF, An JP, Liu X, et al (2018). The nitrate-responsive protein MdBt2 regulates anthocyanin biosynthesis by interacting with the MdMYB1 transcription factor. *Plant Physiol*, 178: 890–906
- Wang Z, Meng D, Wang A, et al (2013). The methylation of *PcMYB10* promoter is associated with green-skinned sport in Max Red Bartlett pear. *Plant Physiol*, 162: 885–896
- 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. *PLoS ONE*, 6 (4): e19455
- Weiss D, van der Luit A, Knecht E, et al (1995). Identification of endogenous gibberellins in petunia flower. Induction of anthocyanin biosynthetic gene expression and the antagonistic effect of abscisic acid. *Plant Physiol*, 107 (3): 695–702
- Xiang Y, Liu YB, Zhao DG, et al (2015). Improve drought tolerance via accumulating anthocyanidin under drought stress in *TPSI* transgenic maize. *Plant Physiol J*, 51 (11): 2054–2062 (in Chinese with English abstract) [项阳, 刘延波, 赵德刚等(2015). 转 $TPSI$ 基因促进干旱胁迫条件下的花青素积累提高玉米植株抗旱性. *植物生理学报*, 51 (11): 2054–2062]
- Xu W, Dubos C, Lepiniec L (2015). Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB–bHLH–WDR complexes. *Trends Plant Sci*, 20: 176–185
- Xu Y, Feng S, Jiao Q, et al (2012). Comparison of *MdMYB1* sequences and expression of anthocyanin biosynthetic and regulatory genes between *Malus domestica* Borkh. cultivar 'Ralls' and its blushed sport. *Euphytica*, 185: 157–170
- Yang F, Cai J, Yang Y, et al (2013). Overexpression of microRNA828 reduces anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 115 (2): 159–167
- Yao P, Zhao H, Luo X, et al (2017). *Fagopyrum tataricum* *FtWD40* functions as a positive regulator of anthocyanin biosynthesis in transgenic tobacco. *J Plant Growth Regul*, 36: 755–765
- Yazaki K, Sugiyama A, Morita M, et al (2008). Secondary transport as an efficient membrane transport mechanism for plant secondary metabolites. *Phytochem Rev*, 7 (3): 513–524
- Yoshida K, Miki N, Momonoi K, et al (2009). Synchrony between flower opening and petal-color change from red to blue in morning glory, *Ipomoea tricolor* cv. Heavenly Blue. *P Jpn Acad B*, 85 (6): 187–197
- Yoshida K, Negishi T (2013). The identification of a vacuolar iron transporter involved in the blue coloration of cornflower petals. *Phytochemistry*, 94 (5): 60–67
- Zhang F, Gonzalez A, Zhao M, et al (2003). A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1-dependent pathways of *Arabidopsis*. *Development*, 130 (20): 4859–4869
- Zhang H, Wang L, Deroles S, et al (2006). New insight into the structures and formation of anthocyanic vacuolar inclusions in flower petals. *BMC Plant Biol*, 6 (1): 29
- Zhang Y, Butelli E, De Stefano R, et al (2013). Anthocyanins



- double the shelf life of tomatoes by delaying overripening and reducing susceptibility to gray mold. *Curr Biol*, 23: 1094–1100
- Zhang Y, Zhang J, Song T, et al (2014). Low medium pH value enhances anthocyanin accumulation in *Malus crabapple* leaves. *PLoS ONE*, 9 (6): e97904
- Zhang Y, Zheng S, Liu Z, et al (2011). Both HY5 and HYH are necessary regulators for low temperature-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* seedling. *J Plant Physiol*, 168: 367–374
- Zhang Z, Pang X, Duan X, et al (2005). Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chem*, 90: 47–52
- Zhang Z, Pang X, Ji Z, et al (2001). Role of anthocyanin degradation in litchi pericarp browning. *Food Chem*, 75: 217–221
- Zhao DQ, Tao J (2015). Recent advances on the development and regulation of flower color in ornamental plants. *Front Plant Sci*, 6: 261
- Zhao J, Dixon RA (2010). The ‘ins’ and ‘outs’ of flavonoid transport. *Trends Plant Sci*, 15 (2): 72–80
- Zhou H, Lin-Wang K, Wang H, et al (2015). Molecular genetics of blood-fleshed peach reveals activation of anthocyanin biosynthesis by NAC transcription factors. *Plant J*, 82 (1): 105–121
- Zhou LL, Zeng HN, Shi MZ, et al (2008). Development of tobacco callus cultures over expressing *Arabidopsis* PAP1/MYB75 transcription factor and characterization of anthocyanin biosynthesis. *Planta*, 229 (1): 37–51
- Zhu ZX, Lu YQ (2016). Plant color mutants and the anthocyanin pathway. *Chin Bull Bot*, 51 (1): 107–119 (in Chinese with English abstract) [祝志欣, 鲁迎青(2016). 花青素代谢途径与植物颜色变异. *植物学报*, 51 (1): 107–119]
- Zipor G, Duarte P, Carqueijeiro I, et al (2015). *In planta* anthocyanin degradation by a vacuolar class III peroxidase in *Brunfelsia calycina* flowers. *New Phytol*, 205: 653–665

## The molecular regulation mechanism of anthocyanin biosynthesis and coloration in plants

ZHUANG Wei-Bing<sup>1,\*</sup>, LIU Tian-Yu<sup>2</sup>, SHU Xiao-Chun<sup>1</sup>, QU Shen-Chun<sup>2</sup>, ZHAI Heng-Hua<sup>1</sup>, WANG Tao<sup>1</sup>, ZHANG Feng-Jiao<sup>1</sup>, WANG Zhong<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China*

<sup>2</sup>*College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China*

**Abstract:** Anthocyanins, widely existed in the roots, stems, leaves, flowers, fruits and seeds of plants in nature, are a family of water-soluble flavonoids. They can give tissues and organs different colors, such as red, blue and purple, and can also be conducive to improve the abilities of plants to reproduce offspring and resist adverse environments. In this paper, we review the biosynthetic pathway of anthocyanin, mechanism of anthocyanin coloration and regulation of environmental factors on anthocyanin biosynthesis, and propose the direction for the future studies. This paper would make us better understanding the molecular regulation mechanism of anthocyanin biosynthesis in plants and provide references for enriching the color types of flowers, leaves and fruits in plants, directionally changing the contents of anthocyanins, and improving cultivation facilities.

**Key words:** anthocyanin; biosynthesis; coloration mechanism; environmental factor

Received 2018-07-08 Accepted 2018-11-04

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31700585), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20170618), and Jiangsu Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources (JSPKLB201829 and JSPKLB201605).

\*Co-corresponding authors: Zhuang WB (weibingzhuangnj@sina.com), Wang Z (wangzhong19@163.com).