

梁玉镯,陈新娜,陈东亮,等. MYB 转录因子调控植物花青素生物合成研究进展[J]. 江苏农业科学,2022,50(22):55-64.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.22.007

MYB 转录因子调控植物花青素生物合成研究进展

梁玉镯^{1,2,3}, 陈新娜^{1,2,3}, 陈东亮^{2,3}, 王 森^{1,2,3}, 李彦慧¹, 黄丛林^{2,3}

(1. 河北农业大学园林与旅游学院,河北保定 071000; 2. 北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所,北京 100097;
3. 北京市功能花卉工程技术研究中心,北京 100097)

摘要:花青素是植物中广泛存在的一类水溶性天然色素,是许多植物叶片、果实、花等器官呈现丰富颜色的主要呈色物质,并广泛参与植物抵御低温、干旱等非生物胁迫及病害、虫害等各种生物胁迫的生化进程。MYB 是植物中最大的转录因子家族之一,广泛参与植物的细胞形态建成、次生代谢物生物合成、分生组织形成、抵御生物及非生物胁迫等众多生理生化进程,同时也是植物花青素生物合成过程中最重要的调控因子,直接影响着花青素的种类和含量,影响花的最终呈色。本文综述了植物花青素生物代谢相关研究,总结了植物花青素的基本特征、生物合成的主要途径、涉及的主要结构基因及其功能等;综述了 MYB 类转录因子的结构特征及其参与植物花青素代谢调控的主要方式,并重点综述了 MBW 复合体在植物花青素代谢中的重要作用,以期为进一步研究花青素生物合成调控机制、花色设计育种等奠定基础。

关键词:花青素;生物合成;结构基因;MYB;表达调控

中图分类号:S188 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)22-0055-10

花青素是一种类黄酮类水溶性天然色素,是植物呈现红色、紫色及蓝色等色彩的主要呈色色素^[1-2]。除此之外,花青素还广泛参与了植物抵御

盐^[3]、干旱^[4-5]、低温^[6-7]等非生物胁迫以及火疫病病菌(*Erwinia amylovora*)^[8]、黄萎病病菌(*Verticillium dahliae*)^[9]、虫害^[10]等生物胁迫的抗逆反应,因此花青素对于植物而言具有重要的生物学意义。对人而言,花青素 also 具有很高的利用价值,有抗氧化、增强血管弹性、预防癌症、提高视力等多种功效,因此,植物花青素被广泛用作医药、保健品、食品添加剂等。

目前,人们对植物花青素的生物合成途径已经

收稿日期:2021-12-26

基金项目:北京市农林科学院青年基金(编号:QNJJ202010);北京市农林科学院科技创新能力建设专项(编号:KJXC20200601)。

作者简介:梁玉镯(1995—),女,河北涿鹿人,硕士研究生,研究方向为菊花分子生物学。E-mail:1253368172@qq.com。

通信作者:黄丛林,博士,研究员,研究方向为花卉分子生物学及其生物技术育种。E-mail:conglinh@126.com。

[54]李鑫杰,张肖宇,陈铁锁,等. 科右前旗水稻秸秆纤维地膜覆盖栽培试验研究初探[J]. 现代农业,2018(11):22-23.

[55]张鸿超. 秸秆纤维地膜覆盖栽培对土壤环境和作物生长发育的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2017:49-51.

[56]张子浩. RGO-6 型水稻插秧机秸秆纤维地膜敷设装置设计[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2014:22-23.

[57]张玉良. 水稻机械覆膜装置研究的重要意义与现状[J]. 吉林农业,2014(6):52.

[58]张玉良. 水稻覆膜机械装置的结构研究与设计[J]. 农业与技术,2014,34(5):50-51.

[59]田佳航. 快速插秧机用覆膜机设计及运动仿真研究[D]. 长春:吉林农业大学,2017.

[60]田佳航,谢哲东,焦海坤. 快速插秧机用覆膜机研究的重要意义与现状[J]. 农业与技术,2017,37(7):44-45,54.

[61]焦海坤,郭洪宇,杨作洲. 快速插秧机用水稻覆膜机械装置的设计与研究[J]. 农民致富之友,2015(22):232-233.

[62]焦海坤,周凌宇,李京虎. 快速覆膜插秧机地膜开口装置设计与分析[J]. 农民致富之友,2015(22):224-225.

[63]陈海涛,赵 阳,侯守印,等. 同步膜上开孔插秧装置运动学仿真与参数优化试验[J]. 农业工程学报,2016,32(11):25-30.

[64]许春林,吕志军,辛 亮,等. 步行式水稻钵苗膜上开孔移栽机构优化设计与试验[J]. 农业机械学报,2019,50(8):90-96.

[65]许春林,单伊尹,辛 亮,等. 探出开孔式高速水稻膜上插秧机分插机构设计与试验[J]. 农业机械学报,2020,51(5):79-87.

[66]于 磊,牟雪雷,韩休海,等. 水稻覆膜高速插秧机的设计研究[J]. 农业科技与装备,2015(6):34-35,38.

[67]韩休海,邢占强,于 磊,等. 水稻机械覆膜插秧试验研究[J]. 农机化研究,2020,42(12):176-179.

[68]高静华,韩休海. 水稻插秧机分段式压膜装置的设计[J]. 农业科技与装备,2016(1):28-29.

[69]吴家安,许春林. 水稻覆膜插秧及配套机具技术展望[J]. 农机使用与维修,2018,26(1):37-38.

研究得比较清楚,涉及许多结构基因的表达,而这些基因又在不同层面受到不同基因的表达调控^[11]。MYB 是植物中最大的转录因子家族之一,广泛参与植物的细胞形态建成、次生代谢物生物合成、分生组织形成、抵御生物及非生物胁迫等众多生理生化进程^[12]。大量研究发现,MYB 类转录因子在植物花青素代谢中发挥着非常重要的调控作用,是目前已知的花青素生物合成途径中最重要的调控因子。本文主要概述了植物花青素生物合成途径,并对参与花青素生物合成途径调控的 MYB 种类及其调控方式等进行了综述,以期为进一步阐述植物花青素生物合成调控及花色形成机制奠定基础。

1 植物花青素的生物合成

花青素是许多植物中最主要的呈色色素。目前已知的植物花青素有 500 多种,其基本结构由 2 个苯环(A—与 B—)组成,并通过 1 个三碳的单位连接形成碳骨架 C6—C3—C6(图 1)。自然界中天然的花青素主要包括天竺葵色素(pelargonidin)、矢车菊色素(cyanidin)和飞燕草色素(delphinidin)三大类^[13],这 3 种色素又经过糖基化、甲基化、酰基化等修饰,进一步形成各种结构更加稳定、颜色更加丰富的花色素苷。植物细胞中花色素苷的种类及含量共同决定了其呈现的颜色。

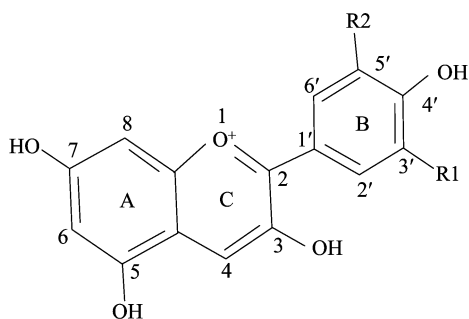


图1 花青素的基本结构

1.1 花青素的生物合成途径

植物中花青素的生物合成通路已经被研究得比较清楚^[14-15],主要分为 3 个阶段(图 2)^[16-20]。第 1 阶段开始于苯丙氨酸,通过苯丙氨酸解氨酶(phenyl alanine ammonialyase, PAL)催化产生肉桂酸,再经肉桂酸羟化酶(cinnamic 4-hydroxy-lase, C4H)生成香豆酸,最后在 4-香豆酰 CoA 连接酶(4-coumarate coenzyme A ligase, 4CL)的作用下,香豆酸转变为 4-香豆酰-CoA,该阶段是大多数次生代谢所共有的。第 2 阶段是类黄酮代谢的重要反

应,丙二酰-CoA 和第 1 阶段的产物 4-香豆酰-CoA 通过查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)作用产生查尔酮,再经查尔酮异构酶(chalcone isomerase, CHI)的催化合成黄酮醇槲皮素(naringenin),然后黄酮醇-3-羟化酶(flavanon 3-hydroxylase, F3H)催化合成二氢黄酮醇(dihydrokaempferol, DHK)。DHK 又可进一步分别被类黄酮-3'-羟化酶(flavonoid 3'-hydroxylase, F3'H)、类黄酮-3',5'-羟化酶(flavonoid 3'5'-hydroxylase, F3'5'H)催化生成二氢槲皮素(dihydroquercetin, DHQ)、二氢杨梅素(dihydromyricetin, DHM)。在第 3 阶段, DHK、DHM 及 DHQ 在二氢黄酮醇 4-还原酶(dihydroflavonol 4-reductase, DFR)、花青素合成酶(anthocyanidin aynthase, ANS)的依次催化下,分别形成天竺葵色素、飞燕草色素及矢车菊色素。然后在糖基转移酶的作用下,形成天竺葵色素苷、飞燕草色素苷及矢车菊色素苷。矢车菊色素苷、飞燕草色素苷又经过不同程度的甲氧基化,进一步形成芍药色素苷(peonidin)、矮牵牛色素苷(petunidin)和锦葵色素苷(malvidin)。自然界中游离的花青素并不稳定,需要经过糖基化、甲基化、酰基化等修饰形成各种花色素苷,才能稳定存在,同时使其具有更加丰富的颜色。

1.2 花青素合成途径中的结构基因

目前,植物花青素生物合成的主要结构基因都已经被分离鉴定^[14,17-18],其生物学功能也比较清楚^[19]。CHS、CHI 都是花青素合成途径上游的关键酶,CHS 催化查尔酮的形成,处于初生代谢和次生代谢的连接处,而 CHI 是查尔酮转变为黄酮醇的关键酶,最早从法国豌豆(*Pisum sativum* L.)中克隆获得^[20]。大量研究发现,CHS、CHI 基因的表达水平与花青素含量呈正相关。例如,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.) *tt4*、*tt5* 突变体中分别导入玉米(*Zea mays* L.) *CHS* (*C2*)、*CHI* (*CH1*) 基因后,发现拟南芥突变体中花青素含量都显著提高^[21]。将小苍兰(*Freesia hybrida*) *CHS1* 基因导入白花矮牵牛(*Petunia hybrida*)中,可以促进矮牵牛中花青素的合成,花色由白色转变为粉色^[22];而通过反义手段抑制 CHS 的表达会阻碍花青素的合成,使颜色褪去而呈白色^[23-24]。Lim 等将洋葱(*Allium cepa*) *CHI* 导入番茄(*Lycopersicon esculentum*)中发现,番茄果皮中的花青素含量增加到原来的 400 倍,果肉中的花青素

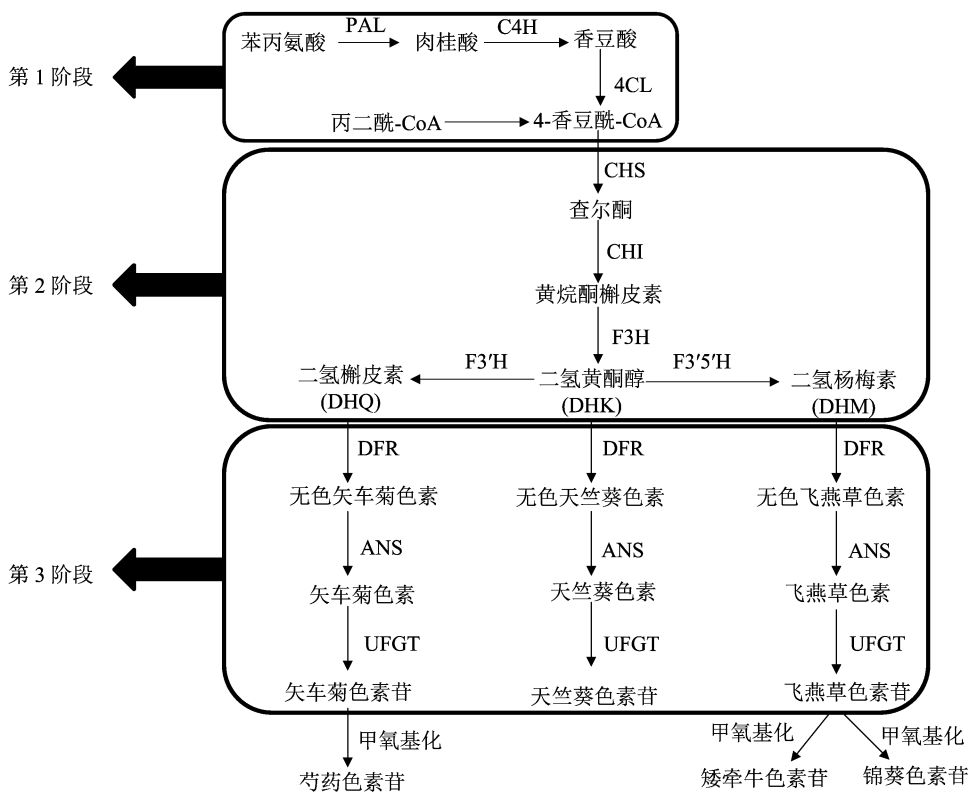


图2 植物花青素的生物合成途径

含量也增加了 260 倍^[25]。

F3H 是催化 4,5,7 - 三羟基黄烷酮产生花青素合成前体物质 DHK 的核心酶,F3'H、F3'5'H 又分别催化 DHK 转变为 DHM、DHQ。DHK、DHQ、DHM 则进一步在 DFR、ANS 等酶的催化下形成不同的花青素。因此,F3'H、F3'5'H 往往被认为是决定花色的关键基因,如果其活性缺失,可能会导致花色无法形成红色或蓝色。月季 (*Rosa chinensis*)、香石竹 (*Dianthus caryophyllus* L.) 和菊花 (*Chrysanthemum morifolium*) 由于 F3'5'H 活性缺失,从而不能形成飞燕草色素,使其缺少蓝色或紫色花^[26];相反的,飞燕草色素含量比较高的大多数飞燕草属植物的 F3'5'H 活性较高,花色多呈现为蓝色或紫色,但因其不含 F3'H 而无法形成矢车菊色素,从而造成其缺失红色或粉色花^[27]。

DFR、ANS 是 DHK、DHM 和 DHQ 分别形成天竺葵色素、飞燕草色素及矢车菊色素所共同需要的酶。DFR 最初是从玉米、金鱼草 (*Antirrhinum majus* L.) 中克隆出来的^[28],后来又相继从油菜 (*Brassica campestris* L.)^[29]、马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.)^[30] 等其他植物中分离出来,研究者逐渐明确了其在花青素合成中的作用,即催化 DHK、DHM 和

DHQ 形成无色的原花青素。无色的原花青素进一步由 ANS 催化转化为有色的花青素,这是花青素生物合成途径的第 1 个有色化合物,而 ANS 也被视为花青素合成途径末端的核心酶。目前研究者已经从紫苏 (*Perilla frutescens* L.)^[31]、桑椹 (*Fructus mori*)^[32]、夏堇 (*Torenia fournieri*)^[33] 等多种植物中分离出了 ANS 类基因,它对植物果实、叶片、花等显现丰富颜色具有重要作用。研究发现,ANS 仅在金钟连翘 (*Forsythia intermedia*) 的萼片中表达,在花瓣和花药中不表达,使得花瓣中未产生花青素^[34],而当龙胆 (*Gentiana scabra*) 中 ANS 基因发生突变时,其花色褪变为白色^[35]。

花青素虽然显现出颜色,但是并不稳定。花青素形成后会进一步经过糖基化、甲基化、酰基化等修饰,形成结构更加稳定、颜色更加丰富的花色素苷。糖基化是花青素修饰中最常见的方式,可以增强花青素的稳定性与水溶性^[36-37]。大部分植物花青素合成后的第 1 步是 C₃ 位经花青素 3-O-葡萄糖基转移酶 (3GT) 的催化进行糖基化^[38],此外,一些植物的 C₅ 位、C₇ 位也存在糖基化修饰,但一般 C₃ 位的糖基化优先于 C₅ 位的糖基化发生^[39]。花青素分子上的羟基或糖苷基上的羧基又可以通过芳香

酸或脂肪酸的作用发生酰基化,所以一般认为花青素酰基化修饰晚于糖基化修饰。酰基化修饰可以进一步增强花青素的水溶性,使花青素保持原有的颜色。此外,当发生芳香族酰基化修饰时,还会改变花青素的吸收波长,使其呈色向蓝色增加的方向移动^[40-41]。甲基化修饰可以稳定花青素的 B 环结构,通常发生在花色素分子的 C₃'、C₅'位羟基上^[41],由于花色素分子 C₃'、C₅'位上的羟基被甲氧基替换,发生甲氧基化,可使花青素显现红色。通常甲基化修饰发生在糖基化修饰之后、酰基化修饰之前,但拟南芥中因为只有 F3'H,使其只能合成矢车菊色素,所以不存在甲基化修饰。

2 植物花青素生物合成途径中 MYB 的调控作用

花青素合成结构基因以直接参与的方式调控花青素的形成,而其表达又受到转录水平中转录因子的调控,大量研究发现,MYB 转录因子是植物花青素合成结构基因中最重要的调控因子。MYB 是高等植物中数量较大的基因家族之一^[42],已在多种植物中被分离鉴定^[43-44]。MYB 转录因子含有 2 个保守区域,分别是 N 端的 DNA 结合结构域和 C 端的调控区域。N 端的 DNA 结合结构域由不完整的重复片段 R1、R2 和 R3(每个 R 序列由大约 51~53 个氨基酸组成)组成^[45],根据结合域所包含的 R 片段的数量,MYB 转录因子家族被分为 R1-MYB、R2R3-MYB、R3-MYB 和 R4-MYB 4 个亚家族^[46]。R1-MYB 类转录因子在植物对逆境的响应中发挥了重要作用^[47-49],并且研究发现,R1-MYB 类转录因子 CCA1 与拟南芥光信号传导有关^[48]。拟南芥、水稻(*Oryza sativa* L.)等大部分植物中均含有 5 个 R3-MYB 转录因子^[49-50],该蛋白主要广泛参与植物细胞调控和细胞分化过程^[51-52]。R4-MYB 蛋白的含量较少,一般在植物中不含有或仅含有 1 个^[53-55],目前对该蛋白的研究比较缺乏。

R2R3-MYB 转录因子在 MYB 家族中的占比最高,有研究发现,在拟南芥已报道的近 200 个 MYB 转录因子中,R2R3-MYB 类就有 126 个^[53-54];在已报道的水稻近 200 个 MYB 中,R2R3-MYB 有 109 个^[53],这类蛋白在 N 端含有 2 个 MYB 结构域(R2、R3),并广泛参与植物次生代谢物的合成,应对各种胁迫的抗逆反应等过程^[55]。R2R3-MYB 类转录因子是目前已知的花青素生物合成途径中最重要的调控因子,它通过调控花青素

生物合成结构基因的表达,决定着花青素的种类及含量,最终影响花、果及叶片等的颜色。依据 R2R3-MYB 蛋白氨基酸序列的不同保守性,R2R3-MYB 家族又进一步被划分为 25 个亚族^[56],并且部分亚族已被证明与花青素生物合成密切相关。例如在模式植物拟南芥中,第 5 亚族 AtMYB123 参与了拟南芥种皮中原花青素的积累^[57],第 6 亚族 AtMYB75、AtMYB90、AtMYB113 和 AtMYB114 调控着营养组织中花青素的合成^[58],而第 7 亚族 AtMYB11、AtMYB12 和 AtMYB111 对拟南芥各器官中花青素的合成都有调控作用^[59]。此外,第 4 亚族的大多数成员为拟南芥花青素合成途径中的负调控因子^[60]。

2.1 MYB 正向调控花青素的合成

大部分参与花青素生物合成调控的 MYB 转录因子属于 R2R3-MYB 类,并且大部分 MYB 对于花青素的生物合成起到促进作用。最早被报道的参与花青素合成调控的 MYB 类转录因子是调控玉米糊粉层的 *ZmC1*,之后研究者又从玉米中分离出 *ZmC1* 的同源基因 *ZmPI*,该基因在玉米的其他器官中调控着花青素的合成^[61]。MYB 转录因子是通过调节花青素合成途径中结构基因的表达进而发挥作用的,几乎所有植物器官中的花青素都受到 MYB 转录因子的正调控。番茄中 *AN1* 的过量表达会导致结构基因 *CHS*、*CHI* 与 *DFR* 的表达量上调,致使番茄果实中的花青素大量积累^[62],而转录因子 *Rosea1* 会促进金鱼草花瓣中结构基因 *F3H*、*DFR*、*ANS* 和 *UFGT* 的表达^[63]。紫甘蓝(*Brassica oleracea* L.)BoMYB2 和紫色花椰菜(*Brassica oleracea* L.)Pr 通过激活下游结构基因 *DFR*、*ANS* 与 *UFGT* 的表达量上调,决定着其叶片的着色^[64-65],而甘薯(*Ipomoea batatas*)块茎中花青素的积累是通过 IbMYB1 调控 *CHS*、*CHI*、*F3H*、*DFR*、*ANS* 和 *UFGT* 的表达而获得的^[66]。

有研究发现,转录因子 MYB 在花青素合成调控中发挥作用时具有一定的组织特异性,在不同器官中发挥主导作用的 MYB 可能不同。红色蝴蝶兰(*Phalaenopsis aphrodite*)中 3 个 R2R3-MYB 转录因子 PaMYB2、PaMYB11、PaMYB12 分别正向调控花萼/花瓣、花萼/花瓣上的斑点及脉络中花青素的积累^[67]。MdMYB1、MdMYBA、MdMYB10 与 MYB110a 是调控苹果(*Malus domestica*)各组织中花青素合成的关键正调控因子,其中 MdMYB1、MdMYBA 主要

参与果皮中花青素的合成,而果实、叶片中的花青素合成受到 MdMYB10 的调控,果实外皮层组织中花青素的合成则与 MYB110a 的表达有关^[68-69]。此外,研究者还从蔷薇科(Rosaceae)其他植物中获得 MdMYB10 的同源基因,如桃(*Prunus persica*)的 PpMYB10 基因^[70]、甜樱桃(*Prunus avium*)的 PavMYB10 基因^[71]、欧洲李(*Prunus domestica* L.)的 PdmMYB10 基因^[72]、櫻桃李(*Prunus cerasifera*)的 PcfMYB10 基因^[72]及梨(*Pyrus sorotina*)的 PyMYB10 基因^[73]等,这些 MdMYB10 的同源基因均通过诱导下游基因 DFR 的表达进而正调控果实中花青素的合成,推测 MYB10 可能是蔷薇科植物果实呈色的关键调控因子。

MYB 通过调节花青素合成结构基因的表达而发挥作用,但是不同 MYB 所调控的结构基因存在差异。如 AtMYB11、AtMYB12 和 AtMYB111 在拟南芥各组织花青素合成通路中调控结构基因 CHS、CHI 和 F3H 的表达,而 DFR、ANS 等结构基因的表达量则与 PAP1、PAP2、AtMYB113 和 AtMYB114 的表达量呈正相关^[64-65]。在拟南芥种子中过量表达 PAP1 基因发现,DFR 表达量大大增加,而 CHS 表达量却没有变化,表明 PAP1 主要调控花青素合成下游结构基因的表达^[74],进而提高花青素含量,相似的情况也发生在玫瑰(*Rosa rugosa*)^[75]、油菜^[76]中。

2.2 MYB 负向调控花青素的合成

部分 R2R3-MYB 对于花青素的合成具有抑制作用,其特征是在蛋白羧基端存在 1 个阻遏结构域,会抑制花青素合成相关基因的转录,进而负调控花青素的合成。拟南芥 R2R3-MYB 第 4 亚族的 AtMYB3、AtMYB4、AtMYB7 及 AtMYB32 这 4 个成员均在花青素生物合成中发挥着负调控作用^[66]。FaMYB1 是草莓(*Fragaria ananassa*)中已知的唯一的转录抑制因子,在烟草(*Nicotiana tabacum* L.)中过量表达 FaMYB1 会抑制花青素合成途径中结构基因 ANS、UFGT 的表达^[77],从而降低花瓣中花青素的含量。而金鱼草中转录负调控因子 AmMYB308 是通过抑制花青素上游结构基因 C4H 的表达进而控制花青素的积累^[78]。苹果中 MdMYB16、MdMYB17、MdMYB111 和油桃(*Prunus persica*)中 PpMYB16、PpMYB111 是高度同源的 R2R3-MYB 类转录因子,对花青素表现出明显的抑制作用^[70,79]。除此之外,在葡萄(*Vitis vinifera* L.)^[80]、蓝莓(*Vaccinium uliginosum* L.)^[81]、杨树(*Populus*

L.)^[82]、苦荞(*Fagopyrum tataricum* L.)^[83]等植物中也发现了抑制花青素合成的 R2R3-MYB 转录因子。

除 R2R3-MYB 外,R3-MYB 类蛋白也对花青素的合成起着抑制作用。与 R2R3-MYB 的抑制机制不同,R3-MYB 主要通过 R2R3-MYB 竞争 MBW 复合体,从而抑制 R2R3-MYB 对花青素合成的促进作用。比如,拟南芥中的 R3-MYB 转录因子 CPC 通过与花青素正调控因子 PAP1/2 竞争结合蛋白,从而抑制花青素结构基因 DFR 等的表达^[84],TRY、ETC1 对拟南芥中花青素的合成具有类似的抑制效应^[85];番茄 SIMYB3 转录因子可以负向干扰 MBW 的形成,从而影响花青素合成^[86]。蝴蝶兰、百合(*Lilium* spp.)等花卉中也存在类似的花青素负调控因子^[87-88]。

有研究发现,一些 MYB 转录因子发生突变也可能抑制花青素合成途径。玉米中转录抑制因子 ZmC1-1 是由激活花青素合成的转录因子 ZmC1 发生突变而形成的,因 ZmC1-1 的转录激活区不完整,从而抑制花青素的积累^[89]。有些 MYB 抑制因子还可以通过与激活因子竞争结合靶基因从而抑制花青素的合成。例如,拟南芥中转录负调控因子 ICX1、PAP1 等激活因子竞争结合 CHS 的启动子序列,进而导致结构基因的表达受到抑制^[90]。

除上述植物外,海棠(*Malus chaenomeles*)^[91]、菊花^[92]和莴苣(*Lactuca sativa* L.)^[93]等植物中也存在对花青素合成途径起负调控作用的转录因子。然而有趣的是,MYB 在植物花青素合成过程中的作用并不是单一不变的,转录因子 VcMYB-PA1 对蓝莓生长前期花青素的合成具有促进作用,而在果实成熟期则会抑制花青素的积累^[94],这也说明植物花青素生物合成及其调控网络的复杂性。

2.3 MBW 复合体调控花青素的合成

MYB、bHLH 和 WD40 可以形成 MBW 三元复合体,调控植物花青素生物合成的机制存在于许多植物中,是许多植物花青素生物合成途径中已知的重要的调控方式。苜蓿(*Medicago truncatula*)中 MYB 蛋白 MtPAR 或者 MtAP1 与 bHLH 蛋白 MtTT8 和 WD40 蛋白 MtWD40-1 可以形成 MBW 复合体,从而激活下游结构基因 ANS 的表达^[95],促进花青素合成。玉米 ZmP1 蛋白是通过与 WD40 类蛋白 ZmPAC 形成二元复合体来调节花青素苷合成结构基因 DFR 的表达^[96],而 ZmC1 蛋白激活 DFR 的表达除

需要 ZmPAC 外,还需要 1 个 bHLH 类蛋白 ZmR 或 ZmB 组成三元复合物^[97],且三元复合物相比二元复合物多了 1 个激活 UFGT 表达的功能。研究发现,从紫粒小麦品种高原 115 (*Triticum aestivum* L.) 中分离的 R2R3 - MYB 转录因子 TaMYB3 - 4A^[98]、TaMYB3 - 4D^[99]与 ZmR 共同在白色小麦胚芽瞬时表达时均能诱导花青素的合成,单独表达时则不能发挥功能。不同的是,TaMYB3 - 4D 只在高原 115 的胚芽鞘和种皮大量积累,而 TaMYB3 - 4A 同时还在茎、叶片等其他组织中进行表达。

大多数植物是通过形成三元复合体调控花青素合成途径的,但组成复合物的 3 种转录因子以及复合物所调节的结构基因都是不确定的。拟南芥 MYB 转录因子 TT2、PAP1 或 PAP2 都需要与 bHLH 转录因子 TT8、EGL3 和 WD40 转录因子 TTG1 结合形成三元复合体,从而促进花青素的合成,其中 PAP1/PAP2 - TT8 - TTG1 复合体调控花青素合成基因 *CHS* 和 *DFR* 的表达^[100],而 TT2 - TT8 - TTG1 组成的复合体能够与 *BAN* 启动子结合,进而激活拟南芥种皮中花青素合成相关基因 *BAN* 的转录。此外,TT2、TT8 共表达时也可以与 *BAN* 启动子结合,但是复合物的活性与 TTG1 的表达有关^[101]。在烟草中也发现三元复合物 MrMYB1 - MrbHLH1 - MrWD40 - 1 的表达比二元复合物 MrMYB1 - MrbHLH1 更能显著提高花青素的含量^[102]。有研究发现,WD40 本身不具有催化作用,但它可以介导 MYB 与 bHLH 之间的互作,增强 MBW 复合体的稳定性和活性^[103]。

MBW 复合体在花青素合成途径中大部分具有转录激活功能,少数会抑制花青素合成基因的转录表达。甜樱桃^[104]、苹果^[77]中的 MYB 转录因子 MYB10、MYB10.1 均可以分别与 bHLH 转录因子 bHLH3 或 bHLH33 相互作用,从而参与花青素的合成,但仅存在 PaMYB10 - PabHLH33 二元复合体时会抑制甜樱桃花青素合成,其他复合体均可以诱导花青素合成下游结构基因的表达。此外,矮牵牛 PhMYB27 与 bHLH 转录因子 AN1 共表达时,也会抑制矮牵牛中花青素的积累^[105]。

3 MYB 及 MBW 上游调控因子

近年来的大量研究发现,花青素合成调控转录因子 MYB 及 MBW 复合体的形成受到 MicroRNA (miRNA) 以及 RNA (siRNA) 的调控。例如,miR858

特异识别部分 MYB 转录因子基因,通过在转录后水平负调控其基因表达,从而调控花青素的生物合成^[106],柿 (*Diospyros kaki*) 中 miR858 通过抑制靶基因 *DkMYB19* 或 *DkMYB20* 的表达进而抑制花青素的积累^[107]。miR828 也可以抑制 PAP1、PAP2 和 MYB113 等 MYB 类转录因子的表达,从而减少花青素的积累。然而有趣的是,PAP1/MYB75 反过来又可以激活 miR828 的表达,miR828 通过剪切 TAS4 产生更多 siRNA,进而增强了对靶基因的控制^[100,108-109]。除此之外,其他 miRNA 也通过其靶基因间接参与对花青素的调控,例如 Gou 等研究发现,拟南芥中转录因子 *SPL9* 是 miR156 的靶基因,而 *SPL9* 的表达会降低 MBW 复合体的稳定性,从而导致花青素合成途径受到抑制^[110],而 Chiou 等也发现,miR827 通过控制靶基因 *NLA* 的表达来影响花青素的合成^[111]。

Gascioli 等研究发现,花青素的合成还可能与 siRNAs 有关^[112]。沉默大丽花 (*Dahlia pinnata* Cav.) 中 siRNA 介导的 *CHS* 转录后基因,会使花色变成纯白色^[113],之后对双色矮牵牛的研究发现,双色性状同样是由 *CHS - A* 转录后的基因沉默造成的,因为发现在花瓣的 2 个不同颜色组织内均可以检测到 *CHS - A* 前体 mRNA,然而白色区域却检测不到 mRNA,但存在 siRNA^[114]。虽然有研究发现,miRNA、siRNA 参与花青素代谢途径转录后水平的调控,但相关报道还是比较缺乏。

4 展望

植物花青素合成途径是一个极其复杂且极具变化的过程,受到一系列结构基因及各种调节因子的作用或相互作用。近年来,关于花青素合成途径的研究已经十分清晰,但花青素合成的调控机制还需要不断研究和探索,以明确更多植物的各个组织中花青素合成调控因子的单独作用和互作效应,从而充分发挥基因的调控作用。除此之外,花青素合成途径还受到环境因子温度、光照、激素等的影响,这使得花青素合成的调控机制变得更为复杂,因此,对于花青素合成的调控机制还有待更深入的探究。花青素的研究还应联系实际,利用转基因、沉默基因、基因突变等技术使调控基因可以定向表达,以提高植物的观赏价值、改良蔬菜及果实的颜色和品质,创造出更大的价值。

参考文献:

- [1] 余 莉. 蜡梅花挥发性组分与花色色素分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [2] Goto T, Kondo T. Structure and molecular stacking of anthocyanins flower color variation[J]. Angewandte Chemie International Edition in English, 1991, 30(1): 17–33.
- [3] Kim J, Lee W J, Vu T T. High accumulation of anthocyanins via the ectopic expression of AtDFR confers significant salt stress tolerance in *Brassica napus* L. [J]. Plant Cell Reports, 2017, 36(8): 1215–1224.
- [4] An J P, Li R, Qu F J, et al. R2R3 – MYB transcription factor MdMYB23 is involved in the cold tolerance and proanthocyanidin accumulation in apple[J]. The Plant Journal, 2018, 96(3): 562–577.
- [5] Naing A H, Ai T N, Lim K B, et al. Overexpression of *Roseal* from snapdragon enhances anthocyanin accumulation and abiotic stress tolerance in transgenic tobacco[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1070.
- [6] Meng X, Yin B, Feng H L, et al. Overexpression of R2R3 – MYB gene leads to accumulation of anthocyanin and enhanced resistance to chilling and oxidative stress[J]. Biologia Plantarum, 2014, 58(1): 121–130.
- [7] Li P, Li Y J, Zhang F J, et al. The *Arabidopsis* UDP – glycosyl transferases UGT79B2 and UGT79B3, contribute to cold, salt and drought stress tolerance via modulating anthocyanin accumulation [J]. The Plant Journal, 2017, 89(1): 85–103.
- [8] Flachowsky H, Szankowski I, Fischer T C, et al. Transgenic apple plants overexpressing the *Lc* gene of maize show an altered growth habit and increased resistance to apple scab and fire blight [J]. Planta, 2010, 231(3): 623–635.
- [9] Long L, Zhao J R, Xu F C. Silencing of *GbANS* reduces cotton resistance to *Verticillium dahliae* through decreased ROS scavenging during the pathogen invasion process [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2018, 135(5): 213–221.
- [10] Li X, Ouyang X F, Zhang Z S, et al. Over – expression of the red plant gene *R1* enhances anthocyanin production and resistance to bollworm and spider mite in cotton [J]. Molecular Genetics & Genomics, 2019, 294(2): 469–478.
- [11] Xu W J, Dubos C, Lepiniec L. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB – bHLH – WDR complexes[J]. Trends in Plant Science, 2015, 20(3): 176–185.
- [12] Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, et al. MYB3Rs, plant homologs of Myb oncoproteins, control cell cycle – regulated transcription and form DREAM – like complexes[J]. Transcription, 2015, 6(5): 106–111.
- [13] 陈 敏, 杨 清. 马铃薯花色苷生物合成与调控研究进展[J]. 中国马铃薯, 2013, 27(4): 232–238.
- [14] Winkel – Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology [J]. Plant Physiology, 2001, 126(2): 485–493.
- [15] Grotewold E. The genetics and biochemistry of floral pigments[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57(1): 761–780.
- [16] Kroon J, Souer E, Graaff A D, et al. Cloning and structural analysis of the anthocyanin pigmentation locus *Rt* of *Petunia hybrid*: characterization of insertion sequences in two mutant alleles[J]. The Plant Journal, 1994, 5(1): 69–80.
- [17] Holton T A, Cornish E C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis[J]. Plant Cell, 1995, 7(7): 1071–1083.
- [18] Davies K M. Modifying anthocyanin production in flowers [M]// Gould K, Davies K, Winefield C. Anthocyanins, 2009: 49–80.
- [19] 张云洁, 潘怡辰, 王汝茜, 等. 植物花青素生物合成途径相关基因的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(34): 12014–12016, 12080.
- [20] Mehdy M C, Lamb C J. Chalcone isomerase cDNA cloning and mRNA induction by fungal elicitor, wounding and infection[J]. The EMBO Journal, 1987, 6(6): 1527–1533.
- [21] Dong X Y, Braun E L, Grotewold E. Functional conservation of plant secondary metabolic enzymes revealed by complementation of *Arabidopsis* flavonoid mutants with maize genes [J]. Plant Physiology, 2001, 127(1): 46–57.
- [22] Sun W, Meng X Y, Liang L J, et al. Molecular and biochemical analysis of chalcone synthase from freesia hybrid in flavonoid biosynthetic pathway[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119054.
- [23] Spribille R, Forkmann G. Genetic control of chalcone synthase activity in flowers of *Antirrhinum majus*[J]. Phytochemistry, 1982, 21(9): 2231–2234.
- [24] Hemleben V, Dressel A, Epping B, et al. Characterization and structural features of a chalcone synthase mutation in a white – flowering line of *Matthiola incana* R. Br. (Brassicaceae) [J]. Plant Molecular Biology, 2004, 55(3): 455–465.
- [25] Lim W S, Li J R. Co – expression of onion chalcone isomerase in *Del/Ros1* – expressing tomato enhances anthocyanin and flavonol production [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2017, 128(1): 113–124.
- [26] Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids [J]. The Plant Journal, 2008, 54(4): 733–749.
- [27] Miyahara T, Hamada A, Okamoto M, et al. Identification of flavonoid 3' – hydroxylase in the yellow flower of *Delphinium zilil* [J]. Journal of Plant Physiology, 2016, 202: 92–96.
- [28] Q'Reilly C, Shepherd N S, Pereira A, et al. Molecular cloning of the *al* locus of *Zea mays* using the transposable elements *En* and *Mul* [J]. The EMBO Journal, 1985, 4(4): 877–882.
- [29] Li Y T, Li J N, Chai Y R, et al. Cloning and sequence analysis of a *DFR* gene from *Brassica campestris* L. var. *oleifera* DC [J]. Molecular Plant Breeding, 2005, 3(4): 485–492.
- [30] Lu Q N, Yang Q, Zou H W. Effects of cerium on accumulation of anthocyanins and expression of anthocyanin biosynthetic genes in potato cell tissue cultures [J]. Journal of Rare Earths, 2006, 24(4): 479–484.
- [31] Gong Z Z, Yamazaki M, Sugiyama M, et al. Cloning and molecular

- analysis of structural genes involved in anthocyanin biosynthesis and expressed in a forma – specific manner in *Perilla frutescens* [J]. Plant Molecular Biology, 1997, 35(6): 915 – 927.
- [32] 王如凤. 桑树花青素生物合成相关基因及其与桑椹花青素含量的关系研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2019.
- [33] Nakajima J I, Tanaka Y, Yamazaki M, et al. cDNA cloning and gene expression of anthocyanidin synthase from *Torenia fournieri* [J]. Plant Biotechnology, 2000, 17(4): 331 – 335.
- [34] Rosati C, Cadic A, Duron M, et al. Molecular characterization of the anthocyanidin synthase gene in *Forsythia × intermedia* reveals organ – specific expression during flower development [J]. Plant Science, 1999, 149(1): 73 – 79.
- [35] Nakatsuka T, Nishihara M, Mishiba K, et al. Two different mutations are involved in the formation of white – flowered gentian plants [J]. Plant Science, 2005, 169(5): 949 – 958.
- [36] Welch C R, Wu Q L, Simon J E. Recent advances in anthocyanin analysis and characterization [J]. Current Analytical Chemistry, 2008, 4(2): 75 – 101.
- [37] Andersen Ø M, Jordheim M. Anthocyanins. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS) [M]. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2010: 1 – 12.
- [38] Nobuhiro S, Toru N. Achievements and perspectives in biochemistry concerning anthocyanin modification for blue flower coloration [J]. Plant & Cell Physiology 2014, 56(1): 28 – 40.
- [39] Tanaka Y, Brugliera F, Chandler S. Recent progress of flower colour modification by biotechnology [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2009, 10(12): 5350 – 5369.
- [40] Luo J, Nishiyama Y, Fuell C, et al. Convergent evolution in the BAHD family of acyl transferases: identification and characterization of anthocyanin acyl transferases from *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2007, 50(4): 678 – 695.
- [41] Yoshida B, Mori M, Kondo T. Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology [J]. Nat Prod Rep, 2009, 26(7): 884 – 915.
- [42] Zhou M L, Hou H L, Zhu X M, et al. Soybean transcription factor *GmMYB22* represses catharanthine biosynthesis in hairy roots of *Catharanthus roseus* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 91(4): 1095 – 1105.
- [43] Paz – Ares J, Ghosal D, Wienand U, et al. The regulatory c1 locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to myb proto – oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators [J]. The EMBO Journal, 1987, 6(12): 3553 – 3558.
- [44] 王雪倩, 袁国振, 吴 泽, 等. 百合 *LaMYB26* 基因克隆与表达分析 [J]. 植物生理学报, 2019, 55(3): 290 – 300.
- [45] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(10): 573 – 581.
- [46] 左 然, 徐美玲, 柴国华, 等. 植物 MYB 转录因子功能及调控机制研究进展 [J]. 生命科学, 2012, 24(10): 1133 – 1140.
- [47] Jia G Q, Li B, Zhang D F, et al. Cloning and characterization of a novel R1 – MYB transcription factor in maize [J]. Progress in Natural Science, 2009, 19(9): 1089 – 1096.
- [48] Wang Z Y, Tobin E M. Constitutive expression of the *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1* (*CCA1*) gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression [J]. Cell, 1998, 93(7): 1207 – 1217.
- [49] Chen Y H, Yang X Y, He K, et al. The MYB transcription factor superfamily of *Arabidopsis*: expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family [J]. Plant Molecular Biology, 2006, 60(1): 107 – 124.
- [50] Gigolashvili T, Yatushevich R, Berger B, et al. The R2R3 – MYB transcription factor HAG1/MYB28 is a regulator of methionine – derived glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2007, 51(2): 247 – 261.
- [51] Ito M. Conservation and diversification of three – repeat Myb transcription factors in plants [J]. Journal of Plant Research, 2005, 118(1): 61 – 69.
- [52] Haga N, Kato K, Murase M, et al. R1R2R3 – MYB proteins positively regulate cytokinesis through activation of KNOLLE transcription in *Arabidopsis thaliana* [J]. Development, 2007, 134(6): 1101 – 1110.
- [53] Li H L, Guo D, Peng S Q. Molecular characterization of the *Jatropha curcas* *JcR1MYB1* gene encoding a putative R1 – MYB transcription factor [J]. Genetics and Molecular Biology, 2014, 37(3): 549 – 555.
- [54] Wang Z Y, Tobin E M. Constitutive expression of the *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1* (*CCA1*) gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression [J]. Cell, 1998, 93(7): 1207 – 1217.
- [55] 万小荣, 李 玲. 植物的 MYB 蛋白 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(2): 165 – 170.
- [56] 樊锦涛, 蒋琛茜, 邢继红, 等. 拟南芥 R2R3 – MYB 家族第 22 亚族的结构与功能 [J]. 遗传, 2014, 36(10): 985 – 994.
- [57] Lepiniec L, Debeaujon I, Routaboul J M, et al. Genetics and biochemistry of seed flavonoids [J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57(1): 405 – 430.
- [58] Gonzalez A, Zhao M Z, Leavitt J M, et al. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG1/bHLH/Myb transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings [J]. Plant Journal, 2008, 53(5): 814 – 827.
- [59] Stracke R, Ishihara H, Hupé G, et al. Differential regulation of closely related R2R3 – MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling [J]. The Plant Journal, 2007, 50(4): 660 – 677.
- [60] Zhou M L, Sun Z M, Wang C L, et al. Changing a conserved amino acid in R2R3 – MYB transcription repressors results in cytoplasmic accumulation and abolishes their repressive activity in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2015, 84(2): 395 – 403.
- [61] Cone K C, Burr F A, Burr B. Molecular analysis of the maize anthocyanin regulatory locus *C1* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1986, 83(24): 9631 – 9635.
- [62] Mathews H, Clendennen S K, Caldwell C G, et al. Activation

- tagging in tomato identifies a transcriptional regulator of anthocyanin biosynthesis, modification, and transport [J]. *Plant Cell*, 2003, 15 (8): 1689 – 1703.
- [63] Davies K M, Schwinn K E. Transcriptional regulation of secondary metabolism [J]. *Functional Plant Biology*, 2003, 30 (9): 913 – 925.
- [64] Yuan Y, Chiu L W, Li L. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in red cabbage [J]. *Planta*, 2009, 230 (6): 1141 – 1153.
- [65] Chiu L W, Zhou X, Burke S, et al. The purple cauliflower arises from activation of a MYB transcription factor [J]. *Plant Physiology*, 2010, 154 (3): 1470 – 1480.
- [66] Mano H, Ogasawara F, Sato K, et al. Isolation of a regulatory gene of anthocyanin biosynthesis in tuberous roots of purple – fleshed sweet potato [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143 (3): 1252 – 1268.
- [67] Hsu C C, Chen Y Y, Tsai W C, et al. Three R2R3 – MYB transcription factors regulate distinct floral pigmentation patterning in *Phalaenopsis* spp. [J]. *Plant Physiology*, 2015, 168 (1): 175 – 191.
- [68] Espley R V, Hellens R P, Putterill J, et al. Red colouration in apple fruit is due to the activity of the MYB transcription factor MdMYB10 [J]. *The Plant Journal*, 2007, 49 (3): 414 – 427.
- [69] Chagné D, Wang K L, Espley R V, et al. An ancient duplication of apple MYB transcription factors is responsible for novel red fruit – flesh phenotypes [J]. *Plant Physiology*, 2013, 161 (1): 225 – 239.
- [70] Ravaglia D, Espley R V, Henry – Kirk R A, et al. Transcriptional regulation of flavonoid biosynthesis in nectarine (*Prunus persica*) by a set of R2R3MYB transcription factors [J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13 (1): 68.
- [71] Lin W K, Bolitho K, Grafton K, et al. An R2R3 MYB transcription factor associated with regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway in Rosaceae [J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10 (1): 50.
- [72] Adam M T, Felix W J, Steele R J, et al. Light – induced expression of a MYB gene regulates anthocyanin biosynthesis in red apples [J]. *Plant Physiology*, 2006, 142 (3): 1216 – 1232.
- [73] Feng S Q, Wang Y L, Yang S, et al. Anthocyanin biosynthesis in pears is regulated by a R2R3 – MYB transcription factor PyMYB10 [J]. *Planta*, 2010, 232 (1): 245 – 255.
- [74] Tohge T, Nishiyama Y, Hirai M Y, et al. Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of *Arabidopsis* plants over – expressing an MYB transcription factor [J]. *The Plant Journal*, 2005, 42 (2): 218 – 235.
- [75] Benzi M M, Shklarman E, Masci T, et al. PAPI transcription factor enhances production of phenylpropanoid and terpenoid scent compounds in rose flowers [J]. *New Phytologist*, 2012, 195 (2): 335 – 345.
- [76] Li X, Gao M J, Pan H Y, et al. Purple canola: *Arabidopsis* PAPI increases antioxidants and phenolics in *Brassica napus* leaves [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58 (3): 1639.
- [77] Yi J X, Michael R D, Li X Y, et al. A single repeat MYB transcription factor, GmMYB176, regulates *CHS8* gene expression and affects is of flavonoid biosynthesis in soybean [J]. *Plant Journal*, 2010, 62 (7): 1019 – 1034.
- [78] Tamagnone L, Merida A, Parr A, et al. The AmMYB308 and AmMYB330 transcription factors from *Antirrhinum* regulated phenylpropanoid and lignin biosynthesis in transgenic tobacco [J]. *The Plant Cell*, 1998, 10 (2): 135 – 154.
- [79] Wang L K, Micheletti D, Palmer J, et al. High temperature reduces apple fruit colour via modulation of the anthocyanin regulatory complex [J]. *Plant Cell & Environment*, 2011, 34 (7): 1176 – 1190.
- [80] Cavallini E, Matus J T, Finezzo L, et al. The phenylpropanoid pathway is controlled at different branches by a set of R2R3 – MYB C2 repressors in grapevine [J]. *Plant Physiology*, 2015, 167 (4): 1448 – 1470.
- [81] 刘中帅, 袁义杭, 张 通, 等. 蓝莓转录因子 VcMYB21 在果实着色及幼苗 UV 处理中的响应 [J]. *植物生理学报*, 2017, 53 (1): 118 – 128.
- [82] 窦立雯. 杨树转录因子 MYB93 负调控类黄酮和木质素合成的分子机制研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2019.
- [83] 赵海霞, 吴小峰, 白悦辰, 等. 苦荞芽期黄酮合成关键酶和 MYB 转录因子基因的表达分析 [J]. *农业生物技术学报*, 2012, 20 (2): 121 – 128.
- [84] Zhu H F, Fitzsimmons K, Khandelwal A, et al. CPC, a single – repeat R3MYB, is a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Plant*, 2009, 2 (4): 790 – 802.
- [85] Simon M, Lee M M, Lin Y, et al. Distinct and overlapping roles of single – repeat MYB genes in root epidermal patterning [J]. *Development Biology*, 2007, 311 (2): 566 – 578.
- [86] Colanero S, Perata P, Gonzali S. The *atroviolacea* gene encodes an R3 – MYB protein repressing anthocyanin synthesis in tomato plants [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 830.
- [87] Fu Z Z, Wang L M, Shang H Q, et al. An R3 – MYB gene of *Phalaenopsis*, *MYBx1*, represses anthocyanin accumulation [J]. *Plant Growth Regulation*, 2019, 88 (5): 129 – 138.
- [88] Sakai M, Yamagishi M, Matsuyama K. Repression of anthocyanin biosynthesis by R3 – MYB transcription factors in lily (*Lilium* spp.) [J]. *Plant Cell Reports*, 2019, 38 (5): 609 – 622.
- [89] Chen B, Wang X, Hu Y, et al. Ectopic expression of a *cl – I* allele from maize inhibits pigment formation in the flower of transgenic tobacco [J]. *Molecular Biotechnology*, 2004, 26 (3): 187 – 192.
- [90] Springob K, Nakajima J I, Yamazaki M, et al. Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins [J]. *Natural Product Reports*, 2003, 20 (3): 288 – 303.
- [91] Wang Y R, Lu Y F, Hao S X, et al. Different coloration patterns between the red – and white – fleshed fruits of malus crabapples [J]. *Scientia Horticulturae*, 2015, 194: 26 – 33.
- [92] Zhu L, Shan H, Chen S M, et al. The heterologous expression of the Chrysanthemum R2R3 – MYB transcription factor *CmMYB1* alters lignin composition and represses flavonoid synthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (6): e65680.
- [93] Park J S, Kim J B, Cho K J, et al. *Arabidopsis* R2R3 – MYB transcription factor AtMYB60 functions as a transcriptional repressor

- of anthocyanin biosynthesis in lettuce (*Lactuca sativa*) [J]. Plant Cell Reports, 2008, 27(6): 985 – 994.
- [94] Zifkin M, Jin A, Ozga J A, et al. Gene expression and metabolite profiling of developing high bush blueberry fruit indicates transcriptional regulation of flavonoid metabolism and activation of abscisic acid metabolism [J]. Plant Physiology, 2012, 158(1): 200 – 224.
- [95] Li P H, Chen B B, Zhang G Y, et al. Regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis by *Medicago truncatula* bHLH transcription factor MtTT8 [J]. New Phytologist, 2016, 210(3): 905 – 921.
- [96] Pooma W, Gersos C, Grotewold E. Transposon insertions in the promoter of the *Zea mays* *al* gene differentially affect transcription by the Myb factors P and C1 [J]. Genetics, 2002, 161(2): 793 – 801.
- [97] Hernandez J M, Heine G F, Irani N G, et al. Different mechanisms participate in the r – dependent activity of the R2R3 MYB transcription factor C1 [J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(46): 48205 – 48213.
- [98] 叶广继, 张波, 陈文杰, 等. 紫粒小麦高原 115 中 R2R3 – MYB 转录因子 TaMYB3 – 4A 的克隆及功能分析 [J]. 分子植物育种, 2016, 14(8): 1940 – 1947.
- [99] 王延谦, 张波, 陈文杰, 等. 小麦 R2R3 – MYB 转录因子 TaMYB3 – 4D 的克隆及功能分析 [J]. 西北植物学报, 2015, 35(4): 646 – 652.
- [100] Borevitz J O, Xia Y, Blount J, et al. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis [J]. The Plant Cell, 2000, 12: 2383 – 2393.
- [101] Baudry A, Heim M A, Dubreucq B, et al. TT2, TT8, and TTG1 synergistically specify the expression of BANYULS and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Journal, 2004, 39(3): 366 – 380.
- [102] Liu X F, Yin X R, Allan A C, et al. The role of *MrbHLHI* and *MrMYB1* in regulating anthocyanin biosynthetic genes in tobacco and Chinese bayberry (*Myrica rubra*) during anthocyanin biosynthesis [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2013, 115(3): 285 – 298.
- [103] Hichri I, Barrieu F, Bogs J, et al. Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(8): 2465 – 2483.
- [104] Starkevič P, Paukštytė J, Kazanavičiūtė V, et al. Expression and anthocyanin biosynthesis – modulating potential of sweet cherry (*Prunus avium* L.) *MYB10* and *bHLH* genes [J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0126991.
- [105] Spelt C, Quattrocchio F, Mol J N, et al. Anthocyanin1 of petunia encodes a basic helix – loop – helix protein that directly activates transcription of structural anthocyanin genes [J]. Plant Cell, 2000, 12(9): 1619 – 1631.
- [106] Guan X Y, Pang M X, Nah G, et al. miR828 and miR858 regulate homoeologous *MYB2* gene functions in *Arabidopsis* trichome and cotton fibre development [J]. Nature Communications, 2014, 5(1): 3050 – 3059.
- [107] Yang S, Zhang M, Xu L, et al. MiR858b inhibits proanthocyanidin accumulation by the repression of *DkMYB19* and *DkMYB20* in persimmon [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 576378.
- [108] Butelli E, Titta L, Giorgio M, et al. Enrichment of tomato fruit with health – promoting anthocyanins by expression of select transcription factors [J]. Nature Biotechnology, 2008, 26(11): 1301 – 1308.
- [109] Yang F X, Cai J, Yang Y, et al. Overexpression of microRNA828 reduces anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell Tissue & Organ Culture, 2013, 115(2): 159 – 167.
- [110] Gou J Y, Felippes F F, Liu C J, et al. Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* by a miR156 – targeted SPL transcription factor [J]. The Plant Cell, 2011, 23(4): 1512 – 1522.
- [111] Chiou T J. The role of microRNAs in sensing nutrient stress [J]. Plant Cell and Environment, 2007, 30(3): 323 – 332.
- [112] Gascioli V, Mallory A C, Bartel D P, et al. Partially redundant functions of *Arabidopsis* DICER – like enzymes and a role for DCL4 in producing trans – acting siRNAs [J]. Current Biology, 2005, 15(16): 1494 – 1500.
- [113] Ohno S, Hosokawa M, Kojima M, et al. Simultaneous post – transcriptional gene silencing of two different chalcone synthase genes resulting in pure white flowers in the octoploid dahlia [J]. Planta, 2011, 234(5): 945 – 958.
- [114] Morita Y, Saito R, Ban Y, et al. Tandemly arranged chalcone synthase A genes contribute to the spatially regulated expression of siRNA and the natural bicolor floral phenotype in *Petunia hybrida* [J]. The Plant Journal, 2012, 70(5): 739 – 749.