

# 果实花青素生物合成研究进展

葛翠莲, 黄春辉, 徐小彪\*

(江西农业大学农学院, 南昌 330045)

**摘要:** 就果实花青素生物合成途径、影响因素、相关调控基因的研究进展进行了综述。

**关键词:** 果实; 花青素; 生物合成

**中图分类号:** S 66

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 09-1655-10

## Research on Anthocyanins Biosynthesis in Fruit

GE Cui-lian, HUANG Chun-hui, and XU Xiao-biao\*

(College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** The anthocyanins biosynthetic pathway and its influence factors, related regulation genes were summarized in this paper.

**Key words:** fruit; anthocyanin; biosynthesis

花青素是构成植物颜色的主要水溶性色素之一 (Clifford, 2000)。花青素是植物体内的一大类次生代谢产物, 统称为类黄酮, 主要以糖苷的形式存在于植物液泡中 (Fleschhut et al., 2006)。在许多果蔬中都富含花青素 (Horbowicz et al., 2008), 如在黑莓、红葡萄、蓝莓果实中花青素的含量分别达到 3.26、7.5 和 4.95  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。世界上最早提取的花青素是红葡萄渣中的葡萄皮红色素, 它于 1879 年在意大利上市。花青素作为一种天然的水溶性可食用色素, 具有非常重要的营养和药理作用, 如能清除自由基, 预防心血管疾病, 抗突变, 提高视力等 (胡雅馨 等, 2006; Coultrap et al., 2008), 因此也越来越受到人们的关注。

## 1 花青素种类与结构

花青素属于类黄酮, 具有类黄酮特有的 C6 - C3 - C6 碳骨架结构 (图 1), 由花色素和糖经糖苷键缩合而成 (Kay et al., 2009)。至今已知的花青素超过 550 种 (You et al., 2011), 但 92% 是由矢车菊色素、飞燕草色素、天竺葵色素、锦葵色素、芍药色素、牵牛花色素 6 种常见的花青素衍生而来的。花青素极少以游离态在植物体内出现, 常与一个或多个葡萄糖、乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖等结合形成 3 - 糖苷、3,5 - 二糖苷等。糖苷结构的稳定性取决于糖数量、取代的位置和酰化作用等 (Kowalczyk et al., 2003)。

收稿日期: 2012 - 06 - 20; 修回日期: 2012 - 07 - 20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31160385)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xiaobiaoxu@hotmail.com)

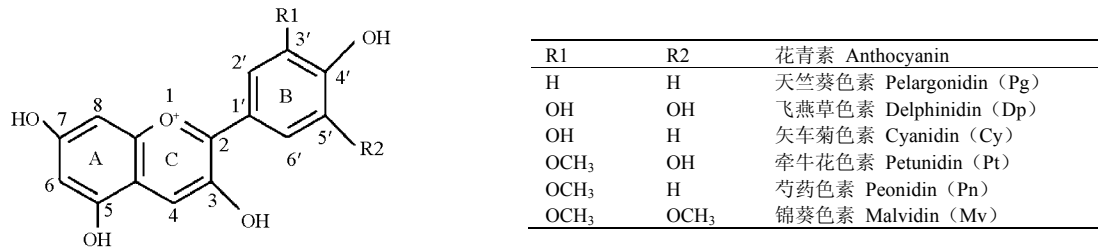


图 1 花青素骨架结构及常见的 6 种花青素

花青苷 A、C 环中的 3、5、7 号碳位上和 B 环上的 3'、4'、5' 碳位上常发生不同程度的羟基化。

花色素在 A、C 环中的 3、5、7 号碳位上可以与单个或多个

糖基连接形成单糖苷、二糖苷或多糖苷。

Fig. 1 Anthocyanin skeleton and six common anthocyanins

Anthocyanin at the 3, 5, 7 position of A, C ring and 3', 4', 5' position of B ring often occur different degrees of hydroxylation. Anthocyanidins can be connected with a single, two or more glycosyls to form a single-glucoside, diglucoside or more glycoside at 3, 5, 7 position of A, C ring.

2 花青素生物合成代谢途径

20 世纪 80 年代末 90 年代初，对花青素的代谢途径研究较为成熟 (Forkmann, 1991)。合成途径如图 2 所示：苯丙氨酸是花青苷及其他类黄酮生物合成的直接前体，首先由苯丙氨酸裂解酶(PAL)催化苯丙氨酸形成肉桂酸，后又经肉桂酸羟化酶 (C4H) 和香豆酰 CoA 连接酶 (4CL) 的催化形成 4 - 香豆素 - CoA，而后在查尔酮合成酶 (CHS) 催化下生成查尔酮，黄色的查尔酮在 4 - 羟查尔酮异构酶 (CHI) 的作用下形成无色的 4',5',7' - 三羟基黄烷酮，再由黄烷酮 - 3 - 羟化酶 (F3H) 催化形成二氢黄酮醇，二氢黄酮醇是类黄酮 3 - 羟化酶 (F3'H) 和类黄酮 3,5 - 羟化酶 (F3'5'H) 的共同底物，这两种酶所催化的反应产物双氢槲皮素和二氢杨梅黄酮是合成花青素的直接前体；两者在二氢黄酮醇 - 4 - 还原酶 (DFR) 作用下形成无色的花色素，经花青素合成酶 (ANS) 合成有色的花色素，最后在类黄酮 3,5 - 糖苷转移酶 (UFGT) 的作用下，将不稳定的花青素催化成稳定的花青苷 (Forkmann, 1991)，花青苷在转移酶的作用下被运输至细胞液泡中。目前已知的途径主要是通过谷胱甘肽转移酶 (GST) 使谷胱甘肽与花青苷相连，依赖 ATP 的 ABC 型转运体运送至液泡膜上。AtTT19 是拟南芥中编码谷胱甘肽转移酶 (GST) 的基因，该基因的缺失会影响花青素的积累，而利用矮牵牛中的 AN9 进行异源表达，发现 AN9 能弥补 AtTT19 缺失引起的花青苷减少，但不能弥补原花青素的积累，说明两者存在差异，AtTT19 既参与花青苷的运输也参与原花青苷的运输 (Kitamura et al., 2004)。但是目前花青苷如何从液泡膜上转入到液泡内还不明确。

在少数植物中，花青苷会以游离态均匀的分布在液泡中，但在绝大部分植物中，花青苷聚集在泡状小体中，这种泡状小体又叫做花青素包涵体 (anthocyanic vacuolar inclusions, AVIs)，已经在许多植物中鉴定到了，AVIs 易聚合具有酰基化的双糖苷花青素，而很少聚合具有酰基化的三糖苷花青素 (Markham et al., 2000)。在拟南芥中，AVIs 的形成与矢车菊 3 - 葡萄糖苷及其衍生物有密切关系。在拟南芥的花青素形成中缺少 5 ~ 0 位上糖基化的突变体中发现，几乎每个子叶表皮细胞中都有 AVIs 的积累，而普通的野生型幼苗中只有一小部分细胞中有 AVIs；同时利用自我吞噬过程缺失的拟南芥突变体中 AVIs 的含量很少，花青素的积累也减少了 (Pourcel et al., 2010)，表明花青苷从细胞质进入到液泡中可能与自噬小体的吞噬作用有关。

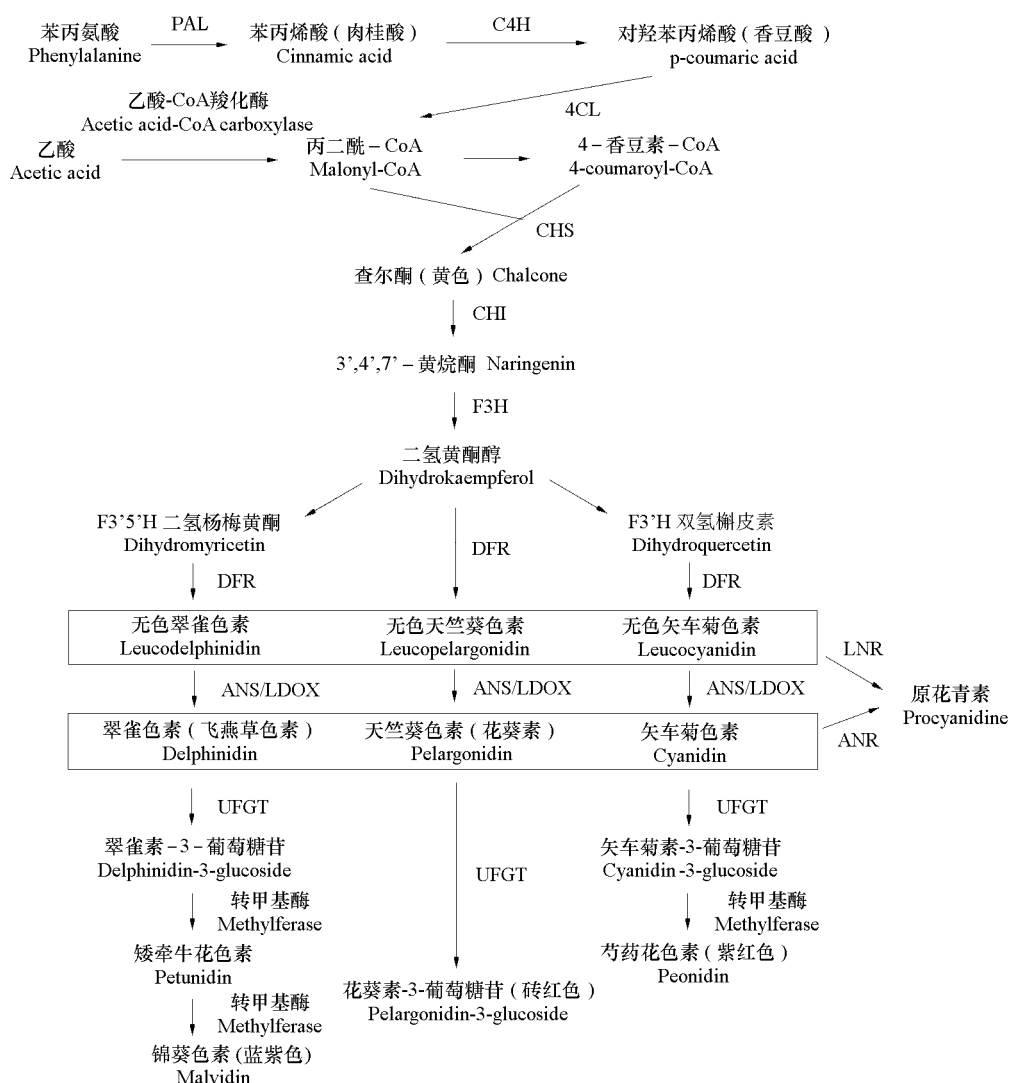


图 2 花青素合成途径

Fig. 2 The biosynthesis pathway of anthocyanin

### 3 光照、温度及果实套袋对花青素生物合成的影响

#### 3.1 光照

花青素合成过程中，或者需要光，或是光能提高植物花青素的含量（Mancinelli, 1985）。光是大多数植物花青素合成的诱导因子，其中光照强度和光质对其合成有不同的影响。用  $160 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的光照强度连续 24 h 光照离体富士苹果，发现果皮花青素含量有所增加（王中华 等, 2004）。不同比例的红光/远红光照射番茄叶片，其对花青素的合成有不同的影响（陈静 等, 2006）。除此之外，光照能提高苹果中 *MdMYB1* 的表达水平，进而促进果皮中花青素的积累（Takos et al., 2006）。查尔酮异构酶（CHI）和查尔酮合成酶（CHS）的形成受日光调控和紫外光诱导。有学者认为光作用于花青素合成的效应机制是：光通过升高乙烯、ABA 水平，限制 GA 活性而削弱花青素形成的抑制作用。

用；通过光合作用提供充足的底物，提高花青素的形成力；通过光敏色素而促进酶的合成与活化。

### 3.2 温度

温度对花青素的合成和积累有较大影响。苹果在低于 10 ℃ 的条件下花青素积累会受到抑制 (Reay & Lancaster, 2001)。葡萄果皮在开始着色后的 7 ~ 21 d 在 20 ℃ 的条件下花青素的积累和 *VvmybA1* 基因的表达量比在 30 ℃ 下多，同时果皮内 ABA 的含量是 30 ℃ 下的 1.6 倍 (Yamanel et al., 2006)。较高的夜温会减少花青素的积累。葡萄在转色期较高的夜温 (大于 30 ℃) 会抑制 *CHS*、*F3H*、*DFR*、*LDOX* 和 *UFGT* 的表达，从而影响花青素的生物合成 (Mori et al., 2005)。

### 3.3 果实套袋

套袋是控制果实着色的一种有效措施。有研究表明：红肉桃在果实发育期间一直套袋会抑制果肉花青素的积累和果肉变红，若在采收前 15 d 摘袋，见光后的果实果肉花青素含量迅速上升，比不套袋的还要高 (柳蕴芬 等, 2010)。套袋对苹果、荔枝果皮花青素合成及 PAL、CHI、DFR 和 UFGT 等 4 种酶活性均有明显地抑制，解袋后，荔枝中的 UFGT 明显升高，果皮花青素迅速上升，苹果中 CHI 和 UFGT 的活性都迅速上升 (王慧聪 等, 2004; 刘晓静 等, 2009)，但 PAL 的活性没有明显变化 (Wang et al., 2000)。除此之外，纸袋的质地对果实花青素的合成和积累影响也不同。用白色单层袋、黄色单层袋、无纺布袋、外白内黄双层袋和外黄内黑复合纸袋对芒果进行套袋处理，结果发现，成熟期时白色单层袋的果实外观着色效果最佳，花青素含量最高 (武红霞 等, 2009)。

## 4 激素和酶对花青素生物合成的影响

研究证明，内源激素对果实着色的调控，取决于促进生长类激素和抑制生长、促进成熟类激素的相互消长。在葡萄细胞培养中发现，茉莉酸能显著提高细胞中主要花青素 (芍药花青素葡萄糖苷) 的含量，而其他种类花青素少量增加，同时进一步延长光照可以在此基础上进一步提高花青苷的总量，但其组分不变 (Curtin et al., 2003)。用 6-BA、ABA 和茉莉酸处理套袋后的荔枝果皮，结果发现 6-BA 抑制 UFGT 酶活性的同时抑制花青苷合成，ABA 和茉莉酸处理提高了 UFGT 酶活性的同时也促进了花青苷的合成 (王慧聪 等, 2004)。有研究表明，喷施一定量的 ABA 有利于‘红阳’猕猴桃果实花青素含量的积累 (刘仁道 等, 2009)。崔艳涛等 (2006) 对激素在李果实花青苷含量的影响进行了总结，认为 ETH 和 ABA 作为诱导信号通过增加细胞膜的透性、增强磷酸戊糖 (PPP) 途径的代谢强度、诱导酶活性升高进而促进花青苷的积累；而  $GA_3$  或 IAA 在果实发育中促进细胞分裂，增加果实“库源”，促进果实维管束发育和调运养分，共同参与花青苷合成的生理过程。

花青苷合成过程中与多种酶的活性有关，在‘富士’苹果中，果皮花青苷含量与果实 PAL 酶、淀粉酶活性呈极显著正相关 ( $r = 0.9982^{**}$  和  $r = 0.9364^{**}$ )，淀粉酶活性的变化促进了糖的积累，有利于花青苷的合成；PAL 酶活性不断增加，促进了花青素的积累 (宋哲 等, 2008)。在红皮砂梨中果实花青素含量与 PAL、UFGT 的活性有密切关系 (黄春辉 等, 2010)。

## 5 糖对花青素生物合成的影响

糖是花青素合成的原料，不仅可以通过糖代谢途径影响花青素的合成，更重要的是通过信号机制影响花青素的合成 (张学英 等, 2004)。在苹果、梨的果皮中花青素含量与糖含量成正相关 (宋哲 等, 2008; 黄春辉 等, 2010)。花青素与糖通过糖基化作用形成稳定的花青苷，而大多数植物一

般都存在第一次糖基化作用，但也有的植物，如红肉猕猴桃中存在第二次糖基化作用（Comeskey et al., 2009）。据杨少华等（2011）报道，用  $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖处理拟南芥幼苗，可以显著提高花青素和还原糖含量，促进花青素合成相关基因（*CHS*、*FLS-1*、*DFR*、*LDOX*、*BANYULS*）的转录，并得出结论：蔗糖既可以通过蔗糖特异信号途径，也可以和其代谢糖通过其他途径共同调节拟南芥花青素的生物合成。

## 6 果实花青素生物合成途径中的结构基因和调节基因

### 6.1 结构基因

影响花青素合成代谢的基因分为结构基因和调节基因，结构基因编码合成代谢相关酶类，直接参与花青素的合成；而调节基因通过其表达的蛋白调控结构基因的表达及其强度（包满珠，1997）。

查尔酮合成酶（Chalcone synthase, CHS）：是类黄酮和花青素代谢过程中的第一个关键酶，催化丙二酰 - CoA 和  $\beta$  - 香豆酰 - CoA 生成查尔酮，形成类黄酮物质的基本碳架结构。目前，已经从蕨类、苔藓、裸子植物和被子植物中克隆了约 650 个 CHS 基因及其相关序列。紫花苜蓿 CHS2 的蛋白晶体结构已经被解析，该酶是一个同源二聚体蛋白，有两个功能互相独立的亚基，分子量为 40 ~ 45 kD，这对研究该酶的功能及作用机理有重要意义（van Tunen et al., 1988）。CHS 基因是一个多基因家族，基因的编码区和结构都十分保守，且在不同科植物间具有较高的保守性。在红肉猕猴桃中，CHS 家族存在 3 个明显的差异片段，且在果实组织中都有表达，但是 CHS2 的表达量明显比 CHS1 和 CHS3 高（Montefiori1 et al., 2011）。CHS 的表达具有器官特异性，可能与器官形态建成、功能分化有着一定的联系，同时 CHS 的表达还受外界环境因素的影响，紫外光、白光、机械损伤、激发因子、抑制因子、病菌等的诱导均有可能启动相关 CHS 的表达（蒋明和曹家树，2007）。

查尔酮异构酶（Chalcone isomerase, CHI）：查尔酮虽然能自发地异构形成（2RS）- 黄烷酮，但是在 CHI 的催化下能快速完成这一过程，速率是前者的  $10^7$  倍（Bednar & Hadcock, 1988）。1987 年，研究者利用抗体技术首次从法国豌豆中分离出 CHI 基因（Mehdy & Lamb, 1987），随后在矮牵牛、草莓等植物中分离出来。CHI 基因也是多基因家族，在拟南芥和矮牵牛中都含有 2 个 CHI 基因，玉米中含有 3 个 CHI 基因。CHI 能与查尔酮合成酶和黄烷酮醇 - 4 - 还原酶在内质网上形成酶复合体进行催化反应（Burbulis & Winkel, 1999），在这个酶复合体中，CHI 的表达可受光、植物病原感染、真菌感染和损伤的诱导（Wood & Davies, 1994）。苜蓿的 CHI 蛋白的三维结构已经被解析，为该基因的深入研究提供参考。

黄烷酮 3 - 羟化酶（Flavanone 3-hydroxylase, F3H）：催化二氢黄烷酮 A 环 3 位上的羟基化，属于依赖 2 - 酮戊二酸的双加氧酶家族，在反应时都需要  $\text{Fe}^{2+}$ 、2 - 酮戊二酸、氧等作为辅因子。F3H 催化黄烷酮类底物产生二氢黄酮醇类产物，为黄酮醇、原花色素、花色素等类黄酮代谢支路提供前体物，是黄烷酮分支点的一个核心酶。利用突变体研究可知，F3H 与花青苷的合成关系密切，F3H 基因在不同物种的拷贝数不同，可能与其不同表达模式有关（Zuker et al., 2002）。

类黄酮 - 3' - 羟化酶（Flavonoid-3'-hydroxylase, F3'H）与类黄酮 - 3',5' - 羟化酶（Flavonoid-3',5'-hydroxylase, F3'5'H）：这两个酶催化类黄酮 B 环上羟基化反应，都属于细胞色素 P450 家族的基因。F3'H 催化二氢黄酮醇 B 环 3'位置的羟基化，生成砖红色的花葵素糖苷。F3'5'H 催化二氢黄酮醇 B 环 3'和 5'位置的羟基化，生成紫色或蓝色的翠雀素糖苷。在矮牵牛不同组织中，F3'H 由 *Ht1* 和 *Ht2* 控制，而 F3'H 的突变使花中积累花葵素而呈现橙红色（Winkel, 2001），而有些植物如玫瑰、郁金香、香石竹等缺乏 F3'5'H 则不能形成蓝色花。

二氢黄酮醇 4-还原酶 (Dihydroflavonol-4-reductase, DFR): 是花青素生物合成过程中后期表达的第一个关键酶, 在辅因子 NADPH 的作用下将 4 位的羰基还原为羟基, 催化 DHK、DHQ、DHM 等 3 种不同的二氢类黄酮醇底物生成无色原花色素、天竺葵素、无色翠雀素和无色矢车菊素 (张学英等, 2004)。在血橙、猕猴桃中已经分离克隆到了 DFR 基因 (Angela et al., 2006; 杨俊等, 2010), 且在猕猴桃不同部位上存在差异表达 (Montefiori1 et al., 2011)。矮牵牛的 DFR 具底物特异性, 不能催化二氢黄酮醇, 因而牵牛花中没有花葵素类色素, 没有橘红色牵牛花 (孟繁静, 2000)。

花色素合成酶 (Anthocyanidin synthase, ANS/Leucoanthocyanidin dioxygenase, LOX): 催化无色的花色素形成有色花色素苷的前体 (Xie et al., 2003)。ANS 已经在拟南芥、金鱼草、草莓等植物中克隆得到, 一般由 2 个外显子和 1 个内含子组成。在拟南芥中已经获得了 ANS 的三维结构, 是属于 2-ODD 家族的蛋白 (Karin et al., 2003)。

类黄酮葡萄糖苷转移酶 (UDPGlucose-flavonoid glucosyltransferase, UFGT): 能将催化完成花青素第 3、5 位的糖基化, 使不稳定的花青素转变为稳定的花色素苷, 可以使无色的花青素转变为有色的花青苷。UFGT 基因是一个大家族, 其中拟南芥中就有 120 种 (Ross et al., 2001), 也是花青素生物合成过程中最重要的分支酶 (Griesser et al., 2008)。UFGT 基因家族中的 *F3GGT1* 和 *F3GT1* 两基因分别对红肉猕猴桃花青素主要成分矢车菊 3-O-木糖苷—半乳糖苷和矢车菊 3-O-半乳糖苷起关键性的调控作用 (Montefiori1 et al., 2011)。

## 6.2 调节基因

目前植物中有 3 类与花青素合成相关的转录因子: (1) R2R3-MYB 蛋白; (2) MYC 家族的 bHLH 蛋白; (3) WD40 蛋白 (Ramsay & Glover, 2005)。这些转录因子与结构基因启动子相结合, 从而激活或者抑制花青素生物合成途径中一个或多个基因的表达。在拟南芥中这些调节基因有编码 bHLH 蛋白的 *TT8*、*GL3* 和 *EGL3*、编码 MYB 蛋白的 *TT2*、*PAP1/PAP2*、*MYB75*、*MYB90*、*MYB113*、*MYB114* 和 *MYB12* 等和编码 WD40 蛋白的 *TTG1* 等 (Shi & Xie, 2010; Qi et al., 2011), 这 3 种蛋白可以形成复杂的 WD-重复/bHLH/MYB 复合体结构, 可以调节 *DFR*、*ANS*、*UFGT* 等基因的表达, 从而调控花青素的合成 (Gonzalez et al., 2008)。

MYB 蛋白是一类 DNA 结构蛋白, 含有一段保守的 DNA 结构区域——MYB 结构域, 由 52 个氨基酸组成, 根据结构域的数量可以分为单一 MYB 结构域 (R1) 蛋白、两个重复 MYB 结构域 (R2R3) 蛋白和 3 个重复 MYB 结构域 (R1R2R3) 蛋白, 但与果实花青素有关的主要是 R2R3-MYB 蛋白 (许志茹等, 2008)。*C1* 是玉米中第一个被克隆到的含有 MYB 结构的基因, 与 *P1* 具有高度同源性 (*C1* 和 *P1* 都属于 cl 基因家族), 两者可以共同调控花青素的合成, 而 *P1* 也可以单独调节。目前已经从杨梅 (Niu et al., 2010)、葡萄 (Kobayashi et al., 2002) 等植物中分离得到了 MYB 调节基因。杨梅中的 *MrMYB1* 与果实中的花青苷总量呈正相关, 可以协同 bHLH 转录因子激活 *AtDFR* 启动子, 调控花青苷合成途径中结构基因的表达进而影响花青苷的合成; 而在不含花青苷的杨梅果实中的 *MrMYB1d* 与 *MrMYB1* 相比, 该基因在起始密码子后第 30 位上缺失一个胞嘧啶, 则不能合成正常的 MYB1 蛋白 (Niu et al., 2010)。*Vvmyb1* 在葡萄果皮中特异表达, 诱导果皮花青素的合成 (Deluc et al., 2006), 该基因的不同基因型则影响着果皮的颜色, 在 *Vvmyb1* 的等位基因上因存在逆转录因子 *Gret1*, 而不能行使 *Vvmyb1* 的功能; *Vvmyb1c* 是 *Vvmyb1* 的一个等位基因, 对 *Vvmyb1* 显性且不含 *Gret1*。*Vvmyb1* 启动子中, 逆转录因子 *Gret1* 的存在与白皮型果实有密切关系 (This et al., 2007)。在最近的研究中发现, MYB 除了能正调控外, 还存在抑制作用的 MYB 蛋白, 如草莓的 *FaMYB1*, 该基因 C 端都具有一个保守的基序 pdLNL<sup>D/E</sup>LXi<sup>G/S</sup>, 这个基序可能与激活子竞争结合靶基因, 从而抑制花青素的合成 (Aharoni et al., 2001)。

**bHLH 类转录因子:** 是植物内第二大家族转录因子。bHLH 转录因子的结构域大约 60 个氨基酸组成, 包括两个保守区域: 一是碱性区域, 分布在多肽链的 N 端, 含有大量碱性氨基酸, 与 DNA 结合相关; 另一为 HLH 区域, 分布在 C 端, 主要由疏水氨基酸残基构成, 利于 HLH 之间相互作用形成二聚体, bHLH 则常以同二聚体或异二聚体的形式行使功能 (刘晓月 等, 2011)。在拟南芥中, bHLH 蛋白至少有 174 个成员, 归类为 21 个子家族, 而矮牵牛中的 AN1、JAF13, 玉米中的 R/B 家族和金鱼草中的 DELILA, 都属于 bHLH 类转录因子。

**WD40 转录因子:** WD40 重复蛋白是一类具有高度保守结构的蛋白家族, 一般含有 4~16 个串联重复的 WD 基元, 每个 WD 基元含有大约由 40 个氨基酸残基组成的保守序列。WD40 首先在植物细胞质中发现, 目前已经在拟南芥、玉米中分别分离到了 TTG1 和 PAC1 转录因子 (Carey et al., 2004; Ramsay & Glover, 2005)。这类转录因子常与 MYB 和 bHLH 蛋白形成复合体共同调控花青素的合成。

## 7 结语

花青素作为一种天然食用色素, 具有安全、来源和用途广泛等特点, 日益受到人们的关注。对花青素的生物合成、结构特性、体内代谢、功能作用等方面的研究已经取得了一定的进展。花青素在合成过程中不仅受到有关酶的作用, 还受到光、温度等外界条件的影响。在改善果实着色方面还可以通过套袋等技术措施来调节果实中激素与酶的相互作用进而影响花青素的合成与积累。目前有关于花青苷在液泡内外的运输机理和花青素包涵体 (AVIs) 形成机制的报道还比较少, 在拟南芥中, AVIs 的形成与自噬作用有关, 而自噬作用可能与花青苷在液泡内外的运输有关, 但这两者间的关系还不是很清楚, 有关两者的形成机理及其相互关系也将是今后研究的热点之一。

随着分子生物学技术的发展, 与花青素生物合成有关的基因也在部分果实中陆续克隆获得, 而调节基因的调控机制仍是当前的研究热点。有研究表明, 不同植物的花青素合成过程中关键酶基因的表达涉及多种调控因子, 且调控因子调控的关键酶基因也不尽相同。在拟南芥、金鱼草中转录因子的克隆比较多, 相对而言在高等植物如果树中研究得还比较少, 且主要在 MYB 上。转录因子间如何相互作用并共同调节花青苷的合成机制目前还是不很清晰, 有待于进一步研究。利用基因工程和组织培养技术将酶基因和转录因子导入到受体植物中, 从而控制果实和花卉的颜色是当前的育种目标之一。随着蛋白质组学和基因组学的发展, 转录因子的克隆及其功能鉴定会进一步为花青苷合成及其调控机理的阐明提供有力依据, 最终实现对优良、特殊种质的保存与充分利用。

## References

- Aharoni A, De Vos CH, Wein M, Sun Z, Greco R, Kroon A, Mol J, Connell A. 2001. The strawberry FaMYB1 transcription factor suppresses anthocyanin and flavonol accumulation in trans-genic tobacco. *The Plant Journal*, 28: 319–332.
- Angela Roberta Lo Piero, Puglisi I, Petrone G. 2006. Gene characterization, analysis of expression and *in vitro* synthesis of dihydroflavonol 4-reductase from [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Phytochemistry*, 67: 684–695.
- Bao Man-zhu. 1997. Gene cloning and its application of anthocyanins in plant—literature review. *Acta Horticulturae Sinica*, 24 (3): 279–284. (in Chinese)
- 包满珠. 1997. 植物花青素基因的克隆及应用——文献综述. *园艺学报*, 24 (3): 279–284.
- Bednar R A, Hadcock J R. 1988. Purification and characterization of chalcone isomerase from soybeans. *J Biol Chem*, 263 (20): 9582–9588.
- Burbulis I E, Winkler S B. 1999. Interactions among enzymes of the *Arabidopsis* flavonoid biosynthetic pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (22): 12929–12934.
- Carey C, Strahle J, Selinger D, Chandler V. 2004. Mutations in the pale aleurone color regulatory gene of the *Zea mays* anthocyanin pathway have

- distinct phenotypes relative to the functionally similar transparent testa glabral gene in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Cell, 16 (2): 450 – 464.
- Chen Jing, Chen Qi-lin, Weng Jun, Liu Yuan, Cheng Zhi-hui, Xu Chun-he. 2004. Effect of illumination with different red/far-red ratios on anthocyanidin synthesis in tomato seedling leaves. Acta Bot Boreal-Occid Sin, 24 (10): 1773 – 1778. (in Chinese)
- 陈 静, 陈启林, 翁 俊, 刘 源, 程智慧, 徐春和. 2004. 不同红光/远红光比例 (R/FR) 的光照影响番茄幼苗叶片中花青素合成的研究. 西北植物学报, 24 (10): 1773 – 1778.
- Clifford M N. 2000. Review anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. J Sci Food Agric, 80: 1063 – 1072.
- Comeskey D J, Montefiori M, Edwards P J B, McGhie T K. 2009. Isolation and structural identification of the anthocyanin components of red kiwifruit. J Agric Food Chem, 57: 2035 – 2039.
- Coultrap S J, Bickford P C, Browning M D. 2008. Blueberry-enriched diet ameliorates age-related declines in NMDA receptor-dependent LTP. AGE, 30: 263 – 272.
- Cui Yan-tao, Meng Qing-rui, Wang Wen-feng, Feng Chen-jing, Yang Jian-min. 2006. Changes and relationship of anthocyanin, endogenous hormone and enzyme activity in the skin of Angelion plum fruit. Journal of Fruit Science, 23 (5): 699 – 702. (in Chinese)
- 崔艳涛, 孟庆瑞, 王文凤, 冯晨静, 杨建民. 2006. 安哥诺李果皮花青素与内源激素酶活性变化规律及其相关性. 果树学报, 23 (5): 699 – 702.
- Curtin C, Zhang Wei, Franco C. 2003. Manipulating anthocyanin composition in *Vitis vinifera* suspension cultures by elicitation with jasmonic acid and light irradiation. Biotechnology Letters, 25: 1131 – 1135.
- Deluc L, Barrieu F, Marchive C, Lauvergeat V, Decendit A, Richard T, Carde J, Me'rillon J, Hamdi S. 2006. Characterization of a grapevine R2R3-MYB transcription factor that regulates the phenylpropanoid pathway. Plant Physiology, 140 (2): 499 – 511.
- Fleschhut J, Kratzer F, Rechkemmer G, Kulling S E. 2006. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins *in vitro*. Eur J Nutr, 45: 7 – 18.
- Forkmann G. 1991. Flavonoids as flower pigments: The formation of the natural spect rum and its extension by genetic engineering. Plant Breed, 106: 1 – 26.
- Gonzalez A, Zhao Ming-zhe, Leavitt J M, Lloyd A M. 2008. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG1/bHLH/Myb transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings. The Plant Journal, 53: 814 – 827.
- Griesser M, Hoffmann T, Bellido M L, Rosati C, Fink B, Kurtzer R, Aharoni A, Juan M B, Schwab W. 2008. Redirection of flavonoid biosynthesis through the down-regulation of an anthocyanidin glucosyltransferase in ripening strawberry fruit. Plant Physiology, 146: 1528 – 1539.
- Horbowicz M, Kosson R, Grzesiuk A, Debski H. 2008. Anthocyanins of fruits and vegetables-their occurrence, analysis and role in human nutrition. Vegetable Crops Research Bulletin, 68: 5 – 22.
- Hu Ya-xin, LI Jing, HUI Bo-di. 2006. Study on major nutrition and anthocyanins of blueberry. Food Science, 27 (10): 600 – 605. (in Chinese)
- 胡雅馨, 李 京, 惠伯棣. 2006. 蓝莓果实中主要营养及花青素成分的研究. 食品科学, 27 (10): 600 – 605.
- Huang Chun-hui, Yu Bo, Su Jun, Shu Qun, Teng Yuan-wen. 2010. A study on coloration physiology of fruit in two Red Chinese sand pear cultivars 'Meirensu' and 'Yunhongli No.1'. Scientia Agricultura Sinica, 43 (7): 1433 – 1440. (in Chinese)
- 黄春辉, 俞 波, 苏 俊, 舒 群, 滕元文. 2010. '美人酥' 和 '云红梨 1 号' 红皮砂梨果实的着色生理. 中国农业科学, 43 (7): 1433 – 1440.
- Jiang Ming, Cao Jia-shu. 2007. Gene of CHS. Chinese Journal of Cell Biology, 29 (4): 525 – 529. (in Chinese)
- 蒋 明, 曹家树. 2007. 查尔酮合成酶基因. 细胞生物学杂志, 29 (4): 525 – 529.
- Karin S, Junichior N, Mami Y. 2003. Recent advances in the biothynthesis and accumulation of anthocyanins. Natural Product Report, (20): 288 – 303.
- Kay C D, Kroon P A, Cassidy A. 2009. The bioactivity of dietary anthocyanins is likely to be mediated by their degradation products. Molecular Nutrition & Food Research, 53 (1): S92 – S101.
- Kitamura S, Shikazono N, Tanaka A. 2004. TRANSPARENT TESTA 19 is involved in the accumulation of both anthocyanins and proanthocyanidins in *Arabidopsis*. The Plant Journal, 7 (1): 104 – 114.
- Kobayashi S, Ishimaru M, Hiraoka K, Honda C. 2002. Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis. Planta, 215: 924 – 933.
- Kowalczyk E, Krzesiński P, Kura M, Szmigiel B, Blaszczyk J. 2003. Anthocyanins in medicine. Pol J Pharmacol, 55: 699 – 702.



- Liu Ren-dao, Huang Ren-hua, Wu Shi-quan, Yu Zhong-shu, Li Xin-xian. 2009. Changes of anthocyanin content in Hongyang kiwifruits and effects of girdling and ABA on its accumulation. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (6): 793 – 798. (in Chinese)
- 刘仁道, 黄仁华, 吴世权, 余中树, 李新贤. 2009. ‘红阳’猕猴桃果实花青素含量变化及环剥和 ABA 对其形成的影响. *园艺学报*, 36 (6): 793 – 798.
- Liu Xiao-jing, Feng Bao-chun, Feng Shou-qian, Wang Hai-bo, Shi Jun, Wang Nan, Chen Wei-yi, Chen Xue-sen. 2009. Studies on anthocyanin biosynthesis and activities of related enzymes of ‘Ralls’ and its bud mutation. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (9): 1249 – 1254. (in Chinese)
- 刘晓静, 冯宝春, 冯守千, 王海波, 石俊, 王娜, 陈为一, 陈学森. 2009. ‘国光’苹果及其红色芽变花青苷合成与相关酶活性的研究. *园艺学报*, 36 (9): 1249 – 1254.
- Liu Xiao-yue, Wang Wen-sheng, Fu Bin-ying. 2011. Research progress of plant bHLH transcription factor family. *Current Biotechnology*, 1 (6): 391 – 397. (in Chinese)
- 刘晓月, 王文生, 傅彬英. 2011. 植物 bHLH 转录因子家族的功能研究进展. *生物技术进展*, 1 (6): 391 – 397.
- Liu Yun-fen, Liu Li, Duan Yan-xin, Fan Lian-mei, Liu Geng-sen, Liu Cheng-lian, Yuan Yong-bing. 2010. Effects of sunlight on red color formation in the flesh of red-fleshed Peach (*Prunus persica* L.). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 26 (13): 308 – 311. (in Chinese)
- 柳蕴芬, 刘莉, 段艳欣, 樊莲梅, 刘更森, 刘成连, 原永兵. 2010. 光对红肉桃果肉红色形成的影响. *中国农学通报*, 26 (13): 308 – 311.
- Mancinelli A L. 1985. Light-dependent anthocyanin synthesis: A model system for the study of plant photomorphogenesis. *The Botanical Review*, 51: 107 – 157.
- Markham K R, Gould K S, Winefield C S, Mitchell K A, Bloor S J, Boase M R. 2000. Anthocyanic vacuolar inclusions: Their nature and significance in flower colouration. *Phytochemistry*, 55: 327 – 336.
- Mehdy M C, Lamb C J. 1987. Chalcone isomerase cDNA cloning and mRNA induction by fungal elicitor wounding and infection. *EMBO J*, 6 (6): 1527 – 1533.
- Meng Fan-jing. 2000. Molecular biology of flower development in plant. Beijing: China Agriculture Press: 225 – 256. (in Chinese)
- 孟繁静. 2000. 植物花发育的分子生物学. 北京: 中国农业出版社: 225 – 256.
- Montefiori I M, Espley R V, Stevenson D, Cooney J, Datson P M, Saiz I A, Atkinson I R G, Hellens R P, Allan A C. 2011. Identification and characterisation of F3GT1 and F3GGT1, two glycosyltransferases responsible for anthocyanin biosynthesis in red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *The Plant Journal*, 65: 106 – 118.
- Mori K, Sugaya S, Gemma H. 2005. Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae*, 105 (3): 319 – 330.
- Niu Shan-shan, Xu Chang-jie, Zhang Wang-shu, Zhang Bo. 2010. Coordinated regulation of anthocyanin biosynthesis in Chinese bayberry (*Myrica rubra*) fruit by a R2R3 MYB transcription factor. *Planta*, 231: 887 – 899.
- Pourcel L, Irani N G, Lu Yu-hua, Riedl K, Schwartz S, Grotewold E. 2010. The formation of anthocyanic vacuolar inclusions in *Arabidopsis thaliana* and implications for the sequestration of anthocyanin pigments. *Molecular Plant*, 3: 78 – 90.
- Qi Tian-cong, Song Su-sheng, Ren Qing-cuo, Wu De-wei, Huang Huang, Chen Yan, Fan Meng, Peng Wen, Ren Chun-mei, Xie Dao-xin. 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*. *The Plant Cell*, 23: 1795 – 1814.
- Ramsay N A, Glover B J. 2005. MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity. *Trends Plant Sci*, 10 (2): 63 – 70.
- Reay P F, Lancaster J E. 2001. Accumulation of anthocyanins and quercetin glycosides in ‘Gala’ and ‘Royal Gala’ apple fruit skin with UV-B – visible irradiation: Modifying effects of fruit maturity, fruit side, and temperature. *Scientia Horticulturae*, 90 (1 – 2): 57 – 68.
- Ross J, Li Y, Lim E, Bowles D J. 2001. Higher plant glycosyltransferases. *Genome Biology*, 2 (2): 1 – 6.
- Shi Ming-zhu, Xie De-yu. 2010. Features of anthocyanin biosynthesis in pap1-D and wild-type *Arabidopsis thaliana* plants grown in different light intensity and culture media conditions. *Planta*, 231: 1385 – 1400.
- Song Zhe, Li Tian-zhong, Xu Gui-xuan. 2008. Studies on the relationship among the anthocyanin sugar and related enzymes activity during the coloring stage of ‘Fuji’ apple. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24 (4): 255 – 260. (in Chinese)
- 宋哲, 李天忠, 徐贵轩. 2008. “富士”苹果着色期果皮花青苷与果实糖份及相关酶活性变化的关系. *中国农学通报*, 24 (4): 255 –

- 260.
- Takos A M, Laffe F W, Lacob S R, Boqs L, Robinson S P, Walker A R. 2006. Light-induced expression of a *MYB* gene regulates anthocyanin biosynthesis in Red apples. *Plant Physiology*, 142: 1216 – 1232.
- This P, Lacombe T, Molly C D, Owens C L. 2007. Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*. *Theoretical and Applied Genetics*, 114 (4): 723 – 730.
- van Tunen A J, Koes R E, Spelt C E, van der Krol A R, Stuitje A R, Mol J N. 1988. Cloning of the two chalcone flavanone isomerase genes from *Petunia hybrida*: Coordinate, light-regulated and differential expression of flavonoid genes. *EMBO J*, 7 (5): 1257 – 1263.
- Wang Hong-qing, Arakawa O, Motomura Y. 2000. Influence of maturity and bagging on the relationship between anthocyanin accumulation and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity in ‘Jonathan’ apples. *Postharvest Biology and Technology*, 2 (19): 123 – 128.
- Wang Hui-cong, Huang Xiu-ming, Hu Gui-bing, Huang Hui-bai. 2004. Studies on the relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes in litchi pericarp. *Scientia Agricultura Sinica*, 37 (12): 2028 – 2032. (in Chinese)
- 王惠聪, 黄旭明, 胡桂兵, 黄辉白. 2004. 荔枝果皮花青苷合成与相关酶的关系研究. *中国农业科学*, 37 (12): 2028 – 2032.
- Wang Zhong-hua, Tang Guo-hui, Li Zhi-qiang, Wang Liang-ju. 2006. Promotion of 5-am inolevulinic acid and genistein on anthocyanin accumulation in apples. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (5): 1055 – 1058. (in Chinese)
- 王中华, 汤国辉, 李志强, 汪良驹. 2006. 5-氨基乙酰丙酸和金雀异黄素促进苹果果皮花青素形成的效应. *园艺学报*, 33 (5): 1055 – 1058.
- Winkel S B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126: 485 – 493.
- Wood A J, Davies E. 1994. A cDNA encoding chalcone isomerase from aged pea epicotyls. *Plant Physiol*, 104 (4): 1465 – 1466.
- Wu Hong-xia, Wang Song-biao, Shi Sheng-you, Ma Wei-hong, Zhou Yi-gang, Zhan Ru-lin. 2009. Effects of bagging on fruit quality in Zill mango. *Journal of Fruit Science*, 26 (5): 644 – 648. (in Chinese)
- 武红霞, 王松标, 石胜友, 马蔚红, 周毅刚, 詹儒林. 2009. 不同套袋材料对红桩 6 号芒果果实品质的影响. *果树学报*, 26 (5): 644 – 648.
- Xu Zhi-yun, Li Chun-lei, Cui Guo-xin, Sun Yan. 2008. MYB protein of anthocyanin biosynthesis in plant. *Plant Physiology Communications*, 44 (3): 597 – 604. (in Chinese)
- 许志茹, 李春雷, 崔国新, 孙燕. 2008. 植物花青素合成中的 MYB 蛋白. *植物生理学通讯*, 44 (3): 597 – 604.
- Xie D Y, Sharma S.B., Paiva N L, Ferreira D, Dixon R A. 2003. Role of anthocyanidin reductase, encoded by BANYULS in plant flavonoid biosynthesis. *Science*, 299: 396 – 399.
- Yamane I T, Jeong S T, Nami G Y, Koshita Y, Kobayashi S. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *AJEV*, 57 (1): 54 – 59.
- Yang Jun, Jiang Zheng-wang, Wang Yan-chang. 2010. Cloning and expression of rihydroflavonol 4-reductase in *Actinidia chinensis* var. *rufopulpa*. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 28 (6): 673 – 681. (in Chinese)
- 杨俊, 姜正旺, 王彦昌. 2010. 红肉猕猴桃 *DFR* 基因的克隆及表达分析. *武汉植物学研究*, 28 (6): 673 – 681.
- Yang Shao-hua, Wang Li, Mu Chun, Wang Xiang, He Jing-hui, Zhao Jing-rao, Wang Lin-song. 2011. Anthocyanin biosynthesis regulated by sucrose in *Arabidopsis thaliana* seedling. *Chinese Journal of biochemistry an Molecular Biology*, 27 (4): 364 – 369. (in Chinese)
- 杨少华, 王丽, 穆春, 王翔, 何静辉, 赵静尧, 王林嵩. 2011. 蔗糖调节拟南芥花青素的生物合成. *中国生物化学与分子生物学报*, 27 (4): 364 – 369.
- You Qi, Wang Bao-wu, Chen Feng, Huang Zhi-liang, Xi Wang, Luo P G. 2011. Comparison of antho-cyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. *Food Chemistry*, 125: 201 – 208.
- Zuker A, Tzfira T, Ben H, Ovadis M. 2002. Modification of flower color and fragrance by antisense suppression of the flavanone 3-hydroxylase gene. *Molecular Breeding*, 9: 33 – 34.
- Zhang Xue-ying, Zhang Shang-long, Luo Jun, Li Shi-cheng. 2004. Advance in research on fruit anthocyanin synthesis. *Journal of Fruit Science*, 21 (5): 456 – 460. (in Chinese)
- 张学英, 张上隆, 骆军, 叶正文, 李世诚. 2004. 果实花色素苷合成研究进展. *果树学报*, 21 (5): 456 – 460.