

花青素积累相关负调控因子的研究进展

杨琳, 王宇, 杨剑飞, 李玉花*

(东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

摘要: 植物花青素的积累受正调控因子与负调控因子的影响, 过去多集中于对正调控因子的研究, 而最近注意到负调控因子对于保证植物正确响应发育及环境信号, 进而精细调控花青素的积累具有重要作用。从结构特征, 作用机制, 参与的调控途径等方面综述了与植物花青素积累相关的负调控因子的研究进展, 根据其对花青素合成关键基因的调控方式分为转录水平调控的转录抑制因子、参与转录后水平调控的负调控因子以及具体作用机制尚不明确的因子 3 大类, 并对相关后续研究方向进行了探讨。

关键词: 花青素; 积累; 负调控因子

中图分类号: Q 946.83⁺6; S 60 **文献标志码:** A **文章编号:** 0513-353X (2014) 09-1873-12

Research Advances on Negative Regulators of Anthocyanin Accumulation

YANG Lin, WANG Yu, YANG Jian-fei, and LI Yu-hua*

(College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Anthocyanin accumulation in plants is influenced by a number of positive and negative regulators. Previous studies mainly focused on the transcriptional activators, and several transcriptional repressors have been shown to negatively regulate anthocyanin biosynthesis recently. It is becoming increasingly clear that negative regulators play important roles in precise regulation of anthocyanin biosynthesis responding to different developmental and environmental signals. In this paper, the latest advances in research progress of negative regulators in anthocyanin accumulation were reviewed from the aspects of structure, mechanism and regulatory pathway. These repressors can be divided into three types depending on their regulatory mechanism: Transcriptional repressors, posttranscriptional repressors and those with unclear mechanism. Finally, the new research directions of these regulators were discussed.

Key words: anthocyanin; accumulation; negative regulator

花青素又称花青苷 (Anthocyanin), 是植物新陈代谢过程中产生的类黄酮类 (Flavonoid) 物质, 与植物多种组织器官的呈色有关 (Koes et al., 2005), 对植物的生长繁殖及对环境的适应有重要意义, 同时在人类医疗保健方面有重要的营养价值和药理作用 (Petroni & Tonelli, 2011; 刘晓芬 等, 2013)。花青素合成途径是源自苯丙烷代谢 (Phenylpropanoid metabolism) 的类黄酮合成途径的一个分支, 其合成代谢涉及多个结构基因、调节因子和环境信号刺激的相互作用。外界环境因子 (如紫外线辐射、干旱、寒冷、伤害等)、内源激素信号 (如茉莉酸、脱落酸等)、营养条件 (如蔗糖、低

收稿日期: 2014-04-22; 修回日期: 2014-08-11

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31272200, 30730078)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: lyhshen@126.com)

氮、低磷等)能诱导植物花青素的积累(Jaakola, 2013; Patra et al., 2013)。花青素合成途径的结构基因在各个物种中比较保守,在双子叶植物中一般包括多种次生代谢途径共有结构基因、特有的早期结构基因 *EBGs* (Early Biosynthesis Genes) 以及晚期结构基因 *LBGs* (Late Biosynthesis Genes) 等(Petroni & Tonelli, 2011)。结构基因的表达由多种转录调节因子控制,而参与正调控花青素合成的转录激活因子主要源于两大类转录因子家族蛋白——MYB 和 bHLH (basic Helix - Loop - Helix) 家族(樊荣辉和黄敏玲, 2013; 刘晓芬 等, 2013)。由这两种蛋白与 WD40 重复蛋白形成 MYB-bHLH-WDR (MBW) 转录复合物来影响结构基因的表达是调控植物花青素积累的主要机制。例如在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中 WD40 蛋白 (TRANSPARENT TESTA GLABRA1, TTG1), bHLH 蛋白 TT8 (TRANSPARENT TESTA8) /GL3 (GLABROUS3) /EGL3 (ENHANCER OF GLABROUS3) 以及 MYB 因子 MYB75 (PRODUCTION OF ANTHOCYANIN PIGMENTS1, PAP1) /MYB90 (PAP2) /MYB113/MYB114 形成复合物,上调晚期结构基因的表达,促进花青素的积累(Ramsay & Glover, 2005; Petroni & Tonelli, 2011; Xu et al., 2013)。近几年,在肉质果实中也发现了大量参与果皮色素合成及果实成熟的 PAP1 同源因子,如葡萄 (*Vitis vinifera*) 浆果中的 VvMYBA1 和 VvMYBA2 (Akifumi et al., 2008)、苹果 (*Malus × domestica*) 中的 MdMYB10 (Kui et al., 2010), 西洋梨 (*Pyrus communis*) 中的 PcMYB10 (Wang et al., 2013) 等。另外与花青素积累相关的 bHLH 因子、TTG1 同源蛋白也在多种水果类植物中得到鉴定(Jaakola, 2013)。

MYB 家族蛋白中不仅包含转录激活因子,还发现另一类拥有转录抑制效应的因子,如早期发现金鱼草 (*Antirrhinum majus*) 中过表达 R2R3-MYB 类转录调控基因 *AmMYB308* 或 *AmMYB330*, 能抑制苯丙烷代谢,如羟基肉桂酸、单体木质醇的合成(Tamagnone et al., 1998); 在拟南芥中找到与 *AmMYB308* 高度同源的 *AtMYB4*, 它能阻碍 UV-B 诱导类黄酮物质芥子酸酯 (Sinapate esters) 的合成(Jin et al., 2000); 与 *AtMYB4* 同属于拟南芥 MYB 第 4 亚家族 (Subgroup 4) 的其他因子,如 *AtMYB3*、*AtMYB7*、*AtMYB32* 等,也被证实在其介导的相关植物生长发育过程中起负调节作用 (Dubos et al., 2010; Fornale et al., 2014)。同时人们发现了许多抑制花青素合成的相关因子,其中也包含与 MYB4 高度同源的部分 MYB 因子。本文将该类转录抑制因子或负调控因子进行分类,总结了相关研究进展,以期进一步阐明植物花青素合成的精细调控网络。

1 参与转录水平调控的转录抑制因子

1.1 R2R3-MYB 转录抑制因子

MYB 蛋白因含有保守结构域 myb (myeloblastosis) 而得名。拥有两个保守域的 R2R3-MYB 因子是花青素合成的主要影响因子,已知完整 R2R3-MYB 因子包含 R2、R3 结构域,每个 R (Repeat) 中包含 3 个 α -螺旋,而两个 R 中的第 3 个螺旋对 DNA 的结合至关重要。R3 结构域中的前两个 α -螺旋中则包含 MYB-bHLH 互作的关键保守域 [D/E]_{Lx2}[R/K]_{x3}Lx₆Lx₃R (Stracke et al., 2001; 图 1)。R2R3-MYB 蛋白大部分起转录激活作用,仅有部分对花青素的积累起抑制作用。

来自第 4 亚家族的 *AtMYB4* 是拟南芥中发现的第 1 个 R2R3 类负调控因子(Hemm et al., 2001),该因子通过靶向抑制芥子酸酯合成关键基因 *C4H* (Cinnamate-4-Hydroxylase) 来负调节植物对 UV-B 的耐受性。*AtMYB4* 对靶基因的抑制反应呈剂量依赖性,即丰度越高,基因沉默能力越强。同时还发现其蛋白 C-末端有一个抑制区域 pdLNL^D/_ELXi^G/_S (图 1),因而该蛋白可能通过直接与靶基因结合而抑制靶基因的转录,或同时作为其他激活因子的竞争者来抑制靶基因的表达。有趣的是该抑制区域也存在于第 4 亚族的其他负调控因子 (*AtMYB3*、*AtMYB7* 和 *AtMYB32*) 中 (Jin et al., 2000)。

最早发现的参与花青素合成的 R2R3-MYB 抑制子是 Aharoni 等 (2001) 从草莓 (*Fragaria × ananasa*) 中分离和鉴定的一个相对较短的蛋白——FaMYB1。通过将 FaMYB1 蛋白在烟草 (*Nicotiana tabacum*) 中的异源表达, 发现它抑制了烟草花瓣中花青素及黄酮类物质槲皮素 (Quercetin) 的积累, 且能显著影响花青素合成下游关键结构基因 *ANS* (Anthocyanidin Synthase) 的表达以及 UDP - 葡萄糖转移酶 (UDP-flavonoid Glucosyl Transferase, GT 或 UFGT) 活性, 酵母双杂交试验进一步证明 FaMYB1 能和已知的花青素合成相关的 bHLH 蛋白 (牵牛花 *Petunia* 中的 JAF13 和 AN1) 相互作用, 同时 FaMYB1 的 C - 末端也有类似 MYB4 的 pdLNL^D/_ELxi^G/_S 抑制基序。这表明 FaMYB1 可能通过抑制花青素合成途径中末端基因 *UFGT* 的表达从而影响花青素的积累 (Aharoni et al., 2001)。另外将 FaMYB1 在百脉根 (*Lotus corniculatus*) 中异源表达后发现 FaMYB1 还能通过与内源 MYBs 因子 (如 TRANSPARENT TESTA2, TT2) 竞争性占据 MBW 复合物中的 MYB 蛋白结合位点, 从而引起对原花青素合成晚期基因的转录抑制 (Paolocci et al., 2011)。

在其他物种中也发现了与 FaMYB1 蛋白序列相似度较高的 R2R3-MYB 因子, 并且相关报道也表明这些因子负调控类黄酮或花青素的积累。FaMYB1 的同源蛋白 FcMYB1, 分离自一种白色智利草莓 (*Fragaria chiloensis*) 品种, 利用 RNAi (RNA interference) 技术证明该因子可能通过调控有色花色素与无色原花青素 (Proanthocyanidins) 的分支点, 即下调表达 *ANS*, 上调表达原花青素合成关键基因 *ANR* (Anthocyanidin Reductase) 和 *LAR* (Leucoanthocyanidin Reductase) 来决定该草莓果实的无色表型 (Salvatierra et al., 2013)。另外最近在裸子植物银杏 (*Ginkgo biloba*) 中也发现类似于 MYB 第 4 亚族的转录抑制子 GbMYBF2, 其在拟南芥中的过表达能显著抑制花青素及黄酮类物质的生成, 并且类黄酮合成途径中的大部分结构基因如 *CHS* (Chalcone Synthase)、*F3H* (Flavanone 3-Hydroxylase)、*FLS* (Flavonol Synthase)、*ANS* 等表达均受到抑制 (Xu et al., 2014); 在苹果中发现的 MdMYB16/17/111 能够阻碍 MYB10-bHLH3 转录激活物对 *DFR* (Dihydroflavonol Reductase) 启动子的激活作用, 并且 MdMYB16 与转录激活子 MYB10、bHLH3 共转染烟草能抑制其叶片色素的积累 (Kui et al., 2011)。

上述 R2R3 类 MYB 蛋白均含有保守的抑制基序 pdLNL^D/_ELxi^G/_S, 并且值得注意的是这个蛋白质基序与另外一个强抑制基序 EAR (Ethylene-responsive element binding factor associated amphiphilic repression domain) 有很高的相似度 (其保守氨基酸序列为 LxLxL 或 DLNxxP)。拥有该基序的转录因子家族, 如第 II 类 AP2/ERF (APETALA2/ETHYLENE-RESPONSIVE ELEMENT BINDING FACTOR) 蛋白和含 Cys-2/His-2 类型锌指基序 (TFIIIA 类) 锌指蛋白等, 在植物发育、激素、逆境胁迫等反应中也扮演负调控因子的角色 (Kagale & Rozwadowski, 2011)。在真核生物中共有两类转录水平的抑制: 主动抑制和被动抑制。主动抑制为直接抑制, 是指抑制子与基本转录起始复合物的组分相互作用, 以基因组染色体的结构为主要目标, 对染色质修饰 (如组蛋白脱乙酰化) 或与转录激活子相互作用从而抑制转录的起始。被动抑制为间接抑制, 主要通过与激活子竞争相同的 DNA 结合位点或与激活子结合并形成一个没有激活活性的复合物, 进而阻碍转录激活子发挥作用。相关研究表明拥有保守抑制基序的蛋白, 其作用机制主要为主动抑制 (Krogan & Long, 2009)。

还有一些特殊的 R2R3-MYB 因子, 不含 EAR 抑制基序, 但是在某些特定条件下也能表现出对花青素积累的抑制。如 AtMYB60, 在拟南芥中发现其参与调节气孔运动及植物耐旱性, 干旱条件下其表达受抑制 (Cominelli et al., 2005)。后来发现 AtMYB60 的表达受 UV-B 诱导, 并且在莴苣 (*Lactuca sativa*) 中过表达该基因时, 转化植株由野生型红叶表型变为绿叶表型, 相应的 *DFR* 表达也下调 (Park et al., 2008)。苹果 (*Malus × domestica*) 中的 MdMYB6 也没有保守抑制域, 而与某些蔗糖反应相关蛋白有高度同源性。拟南芥异源表达系统分析表明在高浓度蔗糖处理条件下, MdMYB6 表现出对花青素积累的抑制, 不仅使大部分结构基因的表达下调, 而且 *PAP1*、*PAP2*、

MYB113/114 的基因表达也受抑制, 表明 *MdMYB6* 可能阻遏蔗糖信号诱导的花青素合成, 相关机制需进一步研究 (Gao et al., 2011)。另外特殊的还有单子叶植物玉米 (*Zea mays*) 中的 *ZmC1-I*, 它是花青素合成 R2R3-MYB 正调因子 *ZmC1* (COLOURLESS1) 的突变形式, 因 C-末端可能部分缺失了 *ZmC1* 的转录激活域而转变为花青素合成的抑制子 (Chen et al., 2004; 图 1)。

最近发现 *AtMYB4* 的同源蛋白 *BrMYB4* 能参与花青素合成的负调控。野生型芜菁 (*Brassica rapa*) 膨大肉质根表皮的色素合成受光诱导 (Zhou et al., 2007; Wang et al., 2012), 在利用 Tiling (Targeting Induced Local Lesions In Genomes) 技术分析甲基磺酸乙酯 (EMS) 处理得到的光不敏感型突变体过程中发现, 一个全红色突变体株系中的 *BrMYB4* 基因序列存在 G-A 碱基突变, 导致该基因转录提前终止, 表达生成无转录抑制活性的突变型 *BrMYB4* 蛋白, 该突变体植株对 UV-B 的耐受性增强, 相应的 *BrC4H* 表达量也比野生型高, 同时其在黑暗下也有大量的花青素合成, 说明 *BrMYB4* 也可能抑制花青素的合成。

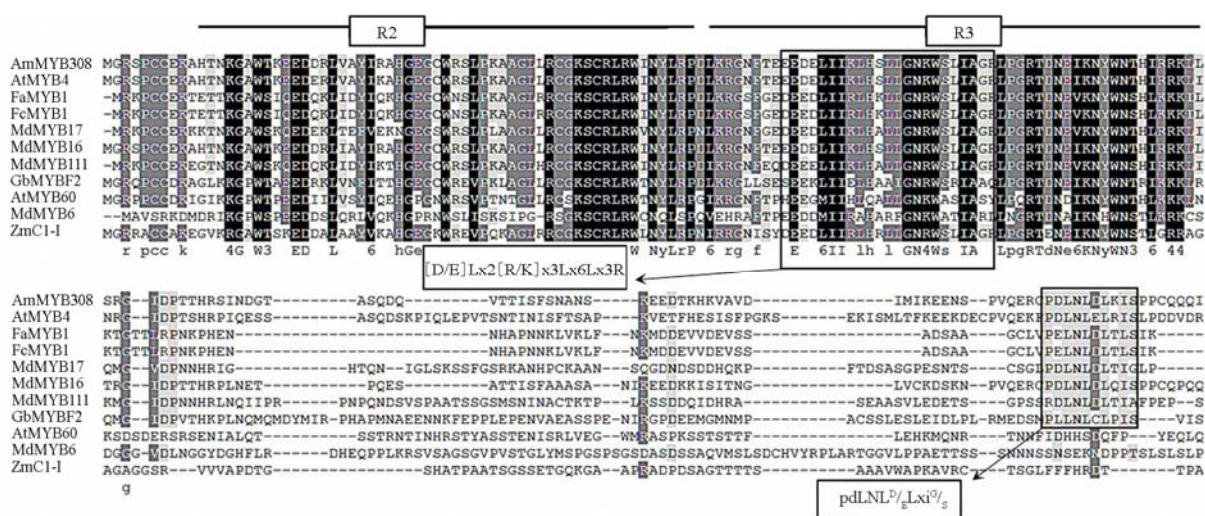


图 1 R2R3-MYB 花青素积累抑制因子的氨基酸序列比对

黑底白字: 序列相似度 = 100%; 浅灰和深灰底白字: 序列相似度 > 50%; 白底黑字: 相似度 < 50%;

[D/E]Lx2[R/K]x3Lx6Lx3R: MYB-bHLH 相互结合基序; pdLNL^D/Lxi^{G/G}: EAR 类似抑制基序。

GenBank 序列登录号 GenBank accession numbers: AmMYB308, P81393; AtMYB4, AF062860; FaMYB1, AF401220.1;

FeMYB1, GQ867222; MdMYB17, HM122618.1; MdMYB16, HM122617.1; MdMYB111, HM122615.1;

GbMYB2, KF48322; AtMYB60, AF062895; MdMYB6, DQ074461.1; ZmC1-I, AY237128.1。

Fig. 1 Multi-alignment of the amino acid sequences of R2R3-MYB type transcription repressors for anthocyanin accumulation

White foreground and black background: Sequence similarity = 100%; White foreground and grey (including dark and light grey)

background: Sequence similarity > 50%; Black foreground and white background: Sequence similarity < 50%.

[D/E]Lx2[R/K]x3Lx6Lx3R: Interaction motif of MYB and Bhlh; pdLNL^D/Lxi^{G/G}: EAR-like repression motif.

1.2 R3-MYB 转录抑制因子

R3-MYB 因子与 R2R3-MYB 因子的区别是其不含有完整的 R2 重复结构域, 一般丧失了与 DNA 结合的能力。模式植物拟南芥中的 R3-MYB 转录抑制子主要是 *AtMYBL2*, *AtCPC* (CAPRICE)。Dubos 等 (2008) 和 Matsui 等 (2008) 同时发现拟南芥中的 *AtMYBL2* 基因, 其编码的 MYB 蛋白包含不完整 R2 重复序列, 该基因缺失突变体的花青素含量剧增, 与花青素合成相关结构基因及调节基因的高水平表达相一致。同时该研究证实了 *AtMYBL2* 蛋白的抑制活性不依赖于与 DNA 序列的结合, 而是与 MYB-bHLH-WDR 转录复合体中的关键 bHLH 蛋白 TT8 结合, 影响花青素合成关键结构基因和调节基因如 *DFR*、*TT8* 的表达。在 *AtMYBL2* 中还发现了不同于 EAR 基序的抑制区域

‘TLLLFR’，说明该蛋白为主动转录抑制子（Matsui et al., 2008）。关于对 AtMYBL2 的调节，发现其受 TT8 的诱导，而其本身又能抑制 TT8 的表达，从而参与 TT8 自身的反馈调节（Matsui et al., 2008; Xu et al., 2013），另外 AtMYBL2 在黑暗或低光条件下高量表达，而在强光、糖等信号刺激下表达受抑制，说明 AtMYBL2 抑制因子介导多种途径调节花青素合成，并在维持其含量平衡方面有重要作用（Dubos et al., 2008; Jeong et al., 2010）。

AtCPC 是另外一个有代表性的参与类黄酮合成的 R3-MYB 抑制因子。AtCPC 完全不含 R2 重复域，因此不能直接结合 DNA 序列；其含有介导 MYB-bHLH 结合的基序，但无类似 EAR、TLLLFR 的保守抑制域（Zhu et al., 2009）。早期研究发现 CPC 参与植物表皮细胞的生长发育，如根毛生长及毛状体的形成过程，并且通过与相关 R2R3-MYB 因子竞争性结合 bHLH 因子发挥作用（Schiefelbein, 2003）。Zhu 等（2009）进一步发现 AtCPC 还能与花青素合成关键激活因子 PAP1/2 竞争结合（E）GL3，从而负调节花青素合成结构基因的表达。这种被动抑制方式在其他物种中也有发现，如矮牵牛中的 R3-MYB 转录因子 PhMYBx 在花青素合成过程起抑制作用。酵母杂交试验表明它能与 HLHs 蛋白 PhAN1、PhJAF13 结合，抑制机制与玉米中的 ZmC1-I 类似，即通过结合 bHLH 因子形成无活性复合物而阻碍花青素的合成（Koes et al., 2005）。PhMYBx 是 AtCPC 的同源蛋白，其表达受强光诱导，因此可能是通过反馈调节来抑制花青素合成（Albert et al., 2011）。最近在日本龙胆（*Gentiana triflora*）花瓣中新发现两个 R3-MYB 蛋白 GtMYB1R1、GtMYB1R9，它们与 AtMYBL2 在 N-端的 R3 部分有较高的相似度，烟草异源表达结果显示其在花中有抑制花青素合成的能力；结构上并没有与 FaMYB1、AtMYBL2 类似的 EAR (pdLNL^D/_ELxi^G/_S)、L2R (TLLLFR) 特殊抑制域，因此抑制机制上更接近于 AtCPC（Nakatsuka et al., 2013）。最新研究发现，在拟南芥的已知 R3-MYB 因子中，只有 AtCPC 在低氮条件下表达量上升，表明其可能参与低氮胁迫诱导花青素积累的负反馈调控（Nemie-feyissa et al., 2014）。

1.3 bHLH 转录抑制因子

bHLH 蛋白是除 MYB 因子外参与花青素合成的重要转录因子家族。其结构中含有保守的 bHLH 基序，每个 bHLH 基序含有两个亚功能区，即位于 N 末端的碱性氨基酸区域和 C 末端的 HLH 区域。前者与 DNA 序列结合相关，后者介导蛋白的二聚化，如形成 bHLH-bHLH 或 bHLH-MYB 二聚体（Heim et al., 2003）。与 MYB 因子类似，bHLH 因子中也有对花青素积累起抑制作用的成员。

在单子叶植株中，早期发现玉米 *intensifier1* 缺失突变体的糊粉层中花青素含量显著升高，且 UFGT 蛋白丰度提高，推测 IN1 (INTENSIFIER 1) 有抑制花青素积累的功能。后续研究发现该基因编码的 IN1 蛋白与玉米中已知的花青素合成相关 bHLH 因子 R1 (RED1) /B1 (BOOSTER1) 家族部分同源，并推测其抑制机制可能是：其与 R1 的相似性使得它足以能和玉米中的 R1/B1 竞争性结合 MYB 蛋白 C1，其不相似性使得它不能发挥激活功能从而无法形成活性二聚体，另外还可能由于与 R1/B1 二聚化而阻碍 R1/B1 发挥功能从而负调节色素积累，具体需进一步验证。此外还发现 IN1 基因转录本有较高的错误剪接率，从而保持低水平的功能性抑制子，这可能是植物保证花青素合成维持正常水平的一种机制（Burr et al., 1996）。

在双子叶植物如拟南芥中发现 BHLH32 作为负调控因子参与低磷 (Pi: Inorganic phosphate) 胁迫反应相关过程（Chen et al., 2007）。低磷条件能显著削弱植物的生长发育，因此植物进化出了一系列应对低磷胁迫的生理生化反应，花青素在低磷条件下高量合成就是其自我防御的方式之一（Rouached et al., 2010）。研究发现 *bhlh32* 突变体在正常条件下积累更多花青素，并且 *DFR* 表达模式与突变体色素积累模式一致，同时还观察到原本是野生型在低磷条件下才诱发的生理形态反应，如低磷反应相关基因的上调表达，磷总量以及根毛的形成量增加等。BHLH32 因子无 MYB 蛋白结

合结构域,但具有与 TTG1、GL3 蛋白结合的能力,由于低磷胁迫适应反应的调控机制一般需要 MBW 蛋白复合体的参与,因此 BHLH 可能通过干扰该复合物的功能,从而负调控多种低磷胁迫反应,包括低磷诱导的花青素合成 (Chen et al., 2007)。

Nakata 等 (2013) 首次发现了一个负调控茉莉酸 (JA) 信号途径的 MYC-2 类似 bHLH 因子 JA-ASSOCIATED MYC2-LIKE1, 简称 JAM1。利用嵌合抑制子基因沉默技术 (Chimeric Repressor Silencing Technology, 简称 CRES-T) 研究表明 JAM1 抑制茉莉酸反应, 包括茉莉酸诱导的花青素的合成。后期研究发现 JAM1 可能存在同源基因, 并在功能上有冗余 (Sasaki-sekimoto et al., 2013)。很快又有报道更全面阐述了该类因子的特征及功能: JAM1 即 BHLH17, 与 BHLH3、BHLH13、BHLH14 同属于拟南芥 bHLH 蛋白第 IIIId 亚家族, 拟南芥的 4 基因突变体 *bhlh3 bhlh13 bhlh14 bhlh17* 表现了对 JA 信号的高度敏感性, 如根的伸长受到强烈抑制, 花青素迅速大量积累等; 并通过瞬时表达试验发现, 这些第 IIIId 亚家族的 bHLH 因子除了能够降低 MYC-2 对其靶基因启动子的作用外, 也能抑制 TT8/MYB75 对 *DFR* 启动子的激活作用, 进一步研究发现此类 bHLH 因子与 MYC-2、TT8、MYB75 之间并无直接相互作用, 而是同靶基因启动子相结合, 表明该类因子通过与转录激活物, 如 WDR-TT8-PAP1 竞争性结合下游靶基因如 *DFR*, 进而负调控 JA 诱导的花青素合成 (Song et al., 2013)。

在 bHLH 抑制子中并没有发现保守抑制功能域, 因此阻碍花青素合成的作用机制主要是被动转录抑制, 可以有 3 种形式: (1) bHLH 抑制子与 bHLH 蛋白形成异源二聚体, 破坏活性 bHLH-MYB 的形成; (2) bHLH 抑制子与 MYB 蛋白结合, 干扰其他活性 MYB-bHLH 复合物的形成; (3) bHLH 与转录复合物的下游靶基因直接结合, 阻碍复合物发挥激活功能。

2 参与转录后水平调控的负调控因子

2.1 MicroRNA 相关的负调控因子

MicroRNA (miRNA) 以及小干扰 RNA (siRNA) 是植物中两类主要的长度为 20~24 个核苷酸 (或碱基对) 的内源非编码小 RNA, 作为负调控因子抑制靶基因的表达。miRNA 由呈发夹结构的单链 RNA 前体经过 Dicer 酶加工后生成, 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水平调控。siRNA 则来源于双链 RNA 前体, 通过互补配对降解靶标转录本, 具体作用方式及功能与 miRNA 存在一定差别 (Brodersen & Voinnet, 2006)。在拟南芥中发现 miR828 的序列与 *MYB82*、*MYB113* 以及 *TAS4* (Trans-Acting SiRNA Gene 4) 基因的部分区域互补。*TAS4* 转录本经 miR828 诱导切割后能形成反式作用小干扰 RNAs (ta-siRNAs), 其中一种 *TAS4*-siR81(-) 能以花青素合成的关键 MYB 基因 *MYB75*、*MYB90*、*MYB113* 的 RNA 转录产物为靶标进行降解 (Hsieh et al., 2009; Dubos et al., 2010)。最近 Yang 等 (2013) 利用 miR828 过表达载体转化拟南芥, 在植物体内证实了 miRNA828/*TAS4*-siR81(-) 参与花青素合成调控的功能。在该转化植株中, *MYB75*、*MYB90*、*MYB113*、*MYB82* 以及 *TAS4* 转录本水平显著降低, 相应花青素合成基因的表达也明显下调, 花青素含量大大减少, 表明 miR828/*TAS4*-siR81(-) 能通过抑制花青素正调控因子 *PAP1*、*PAP2*、*MYB113* 的表达进而负调控花青素的积累 (Yang et al., 2013)。此外, 在低磷胁迫条件下发现 *PAP1/2* 与 *TAS4*-siR81(-) 的表达都升高, 在蔗糖或葡萄糖的生理浓度条件下也观察到类似的现象, 揭示了 *PAP1* 通过 miR828/*TAS4*-siR81(-) 进行自调节的环路机制 (Hsieh et al., 2009; Luo et al., 2012)。

在拟南芥中花青素主要在莲座丛 (Rosette) 与茎的连接部位积累, 这种空间表达模式主要由

microRNA156 的靶基因 *SPL9* (Squamosa Promoter Binding Protein-like 9) 控制 (Gou et al., 2011; Jaakola, 2013)。早期发现 *SPL9* 主要在拟南芥营养性生长到开花转变过程中起调控作用, 后期研究发现提高 miR156 的活性显著抑制 *SPL9* 的表达, 但能诱导花青素合成关键酶基因及 TFs 基因的表达, 同时提高植物花青素的合成, 另一方面降低 miRNA156 的活性能提高 *SPL9* 的转录, 并且类黄酮合成途径中不同于花青素合成途径的另一分支产物——黄酮类物质含量升高, 进一步的研究表明 miR156 的靶基因 *SPL9* 在花青素合成途径中起抑制作用, *SPL9* 的抑制性并非源自与结构基因如 *DFR* 的结合, 而是由于含有与 PAP1 相互作用的功能域, 该功能域与 TT8 的类似, 从而和 TT8 竞争结合 PAP1, 因此 miR156 的靶标 *SPL9* 主要通过降低 MBW 复合物的稳定性来抑制花青素的积累 (Gou et al., 2011)。

2.2 UPS 相关的负调控因子

在植物中, 泛素 (ubiquitin) /26S 蛋白酶体系统 (ubiquitin/26S proteasome system UPS) 通过对相关蛋白的降解, 参与某些生长发育反应转录后水平的调控 (Zeng et al., 2006)。重要光型态建成因子 COP1 (CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC1) 及 SPA (SUPPRESSOR OF PHYA-105) 通过 UPS 系统完成对光诱导的花青素积累的抑制功能。拟南芥在光下能积累花青素, 在黑暗条件下则不能, 但是 *cop1*、*spa* 突变体在黑暗下仍有花青素的积累。COP1 与 SPA 能形成复合物并作为 E3 泛素连接酶发挥作用, 使靶蛋白泛素化, 然后引导其通过 UPS 途径降解。在花青素合成中起转录激活作用的因子, 如 PAP1、PAP2、HY5 (LONG HYPOCOTYL5) 及其同源物 HYH 等作为 COP1/SPA 的直接靶蛋白被降解, 表明 COP1/SPA 通过靶向结合多个花青素合成的关键活性因子协调抑制光诱导的花青素生物合成 (Shin et al., 2013)。另外还发现 COP1 尤其是 SPA 能抑制 PAP1、PAP2 的转录水平, 表明 COP1/SPA 能同时通过转录水平及转录后水平影响 PAP1、PAP2 因子的丰度, 进而影响光诱导的花青素合成 (Maier et al., 2013)。

植物激素茉莉酸 (Jasmonic Acid) 也能诱导拟南芥的花青素合成, 这种诱导作用主要由负调控因子 JAZ 蛋白 (JASMONATE ZIM-DOMAIN PROTEIN) 以及另外一种基于 F-Box 蛋白 COI1 (CORONATINE INSENSITIVE1) 形成的 SCF^{COI} (SKP-like-CULLIN-F-Box Protein) 复合体所控制。JAZ 蛋白能与 bHLHs (GL3、EGL3、TT8) 和 R2R3-MYBs (PAP1、PAP2) 结合, 阻碍形成活性 MBW 复合体。而在 JA 信号刺激下, SCF^{COI} 复合体促使 JAZ 蛋白通过 26S-UPS 途径降解, 释放 bHLHs 及 MYBs, 产生有效转录复合物, 下游信号通路打开, 促进花青素的积累 (Qi et al., 2011)。有趣的是 JAZ 蛋白还能与前面提到的第 IIIId 亚家族 bHLH 抑制因子结合而抵消其对花青素的抑制功能 (Song et al., 2013), 因此 JAZ 蛋白在 JA 诱导的花青素合成方面既可作为负调控因子又可作为正调控因子而存在。

3 其他负调控因子

拟南芥 *icx1* (increased chalcone synthase expression 1) 突变体在多种外界刺激下能高量表达 *CHS* 及其他类黄酮合成基因, 因此该基因可能通过多种途径直接或间接负调控 *CHS* 的表达及花青素的积累: 如 UVR8 (UV RESISTANCE LOCUS8)、CRY1 (cryptochrome1)、phyA (phytochrome A) 介导的光诱导途径, 低温、蔗糖、细胞分裂素 (cytokinin: CK) 等非光诱导途径。该基因的特性及其翻译产物的功能尚不明确, 同时它可能并不像其他抑制因子一样直接作用于花青素合成关键基因或转录因子复合物, 而具体的机制还有待进一步深入研究 (Wade et al., 2003)。

氮 (N) 和硝酸盐 (NO₃⁻) 是植物生长发育所需的重要物质, 它参与调节包括花青素生物

合成等多种植物代谢反应。 N/NO_3^- (氮或硝酸盐) 充足时, 花青素合成受抑制, 而 N/NO_3^- 不足时, 植物花青素含量升高。 N/NO_3^- 诱导的 LBD (Lateral organ Boundary Domain) 家族因子 LBD37、LBD38、LBD39 能抑制花青素积累, 在 N/NO_3^- 缺失条件下, 过表达三者之中的任意一个因子都能强烈抑制 *PAP1/PAP2* 的表达, 相应地 *lbd37*、*lbd38* 或 *lbd39* 突变体能在 N/NO_3^- 充足的条件下积累花青素并表达相应基因, 表明这些 LBD 因子作为 *PAP1*、*PAP2* 的上游因子介导 N/NO_3^- 对花青素合成的抑制, 然而它们是否直接结合 *PAP1*、*PAP2* 的启动子区域还有待进一步研究 (Rubin et al., 2009; Zhou et al., 2012)。

植物激素乙烯能显著抑制花青素的合成。已知在乙烯信号途径中, 乙烯通过一系列上游通路组分 (如受体系统等) 诱导该通路中的核心转录因子 EIN3 (Ethylene-Insensitive 3) /EIL1 (EIN3-Like Protein 1) 的积累, 从而产生乙烯反应并参与其他生理过程 (Jeong et al., 2010; 李文阳 等, 2013)。Jeong 等 (2010) 发现乙烯可能通过类似的信号组件抑制花青素的合成, 其中 EIN3 及其同源蛋白 EIL1 在功能上冗余, 具体表现为 *ein3 eil1* 双突变体的花青素积累显著上升, 而 *ein3-1* 或 *eil1-3* 单突变体则无此现象。另外发现乙烯影响糖或光诱导的花青素积累主要是通过下调表达正调控 TFs (包括 GL3、TT8、*PAP1*) 从而激活负调控因子 MYBL2 的表达来实现的, 该过程是否由乙烯信号途径关键转录因子 EIN3/EIL1 直接作用仍有待研究 (Jeong et al., 2010; Das et al., 2012; 综合文献整理得到花青素合成负调控因子示意图, 图 2)。

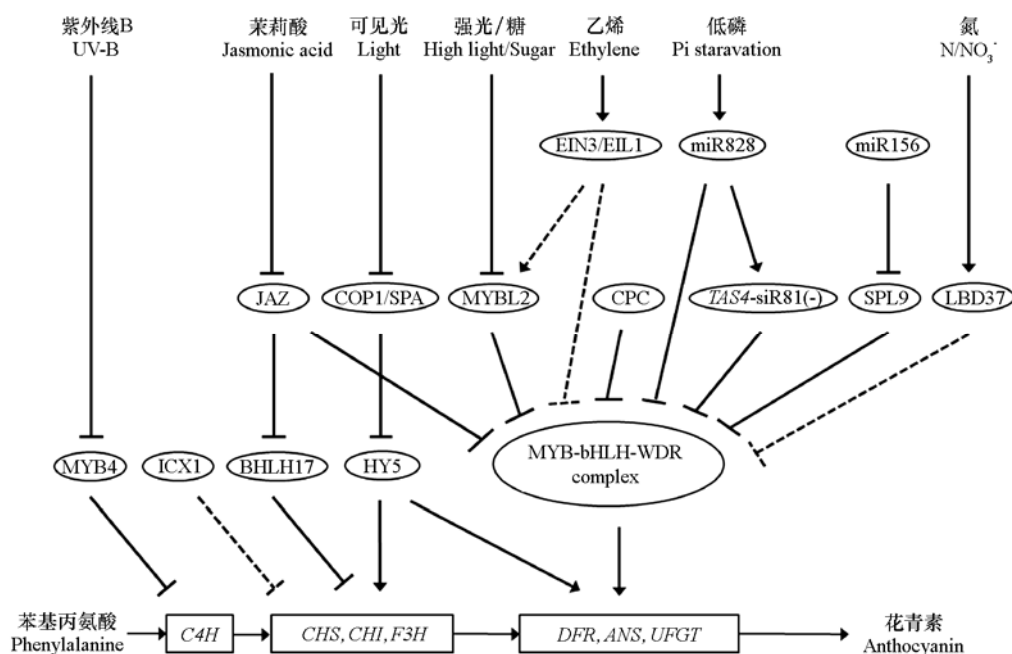


图 2 植物花青素合成负调控因子

纵、斜箭头表示正调控作用, 横向箭头表示生物合成流向, “T” 型箭头表示负调控作用;
虚线表示尚未证实有直接作用; 方框表示结构基因, 椭圆表示调控因子。

Fig. 2 Negative regulators of anthocyanin biosynthesis in plants

The vertical, oblique arrows represent positive regulation. Horizontal arrows represent biosynthesis pathway. “T” type arrows represent negative regulation. Dotted lines represent that the upstream factors haven’t yet been proved to directly interact with the anthocyanin accumulation related genes or proteins. Boxes represent the structure genes while circles represent the regulators.

此外有研究表明 DNA 甲基化可能介导植物花青素的合成。例如梨 (*Pyrus communis*) *PcMYB10* 基因启动子区的高度甲基化与其果皮花青素含量的减少有关 (Wang et al., 2013), 类似情况在苹果中也有发现 (Telias et al., 2011)。DNA 甲基化修饰现象广泛存在于多种有机体中, 是表观遗传学 (Epigenetics) 的重要组成部分。大量研究表明, DNA 甲基化能引起染色质结构、DNA 构象、DNA 稳定性及 DNA 与蛋白质相互作用方式的改变, 从而调控基因的表达。因此诱发 DNA 甲基化的因子也可看成是花青素合成的负调控因子, 相关机制仍不清楚。

最近有研究发现, 奇异果 (*Actinidia chinensis*) 的 MADS-Box 蛋白基因 *SVP3* 在毛花猕猴桃 (*A. eriantha*) 及烟草中异源表达, 可以通过分别抑制关键 R2R3-MYB 因子基因 *MYB110a* 和 *NtAN2* 的表达, 从而减少花器官色素的积累, 其具体调节机制有待进一步解析 (Wu et al., 2014)。

4 展望

早在 20 世纪 90 年代初, 花青素合成途径的相关酶基因已经被阐明, 而后的研究多集中于该途径的上游调控因子, 诸多研究采用正反向遗传学和生化分析等方法发现了以 MBW 复合物为主的一系列正调控因子。近期的研究表明, 在该途径中也存在负调控因子的参与, 这可能是植物为了减少在相同路径中伴随产生潜在的有毒物质, 降低对细胞产生的不良影响, 或是降低花青素合成及转运所消耗的物质和能量, 从而更好地适应多变的环境。因此负调控因子在花青素调控网络中的精细调控作用 (图 2) 不容小视, 而此类负调控因子对植物花青素合成的抑制机制仍有待深入解析, 例如, 负调控因子如何协同正向调节因子响应外界信号刺激参与花青素合成调控网络, 多种外界刺激信号是否对某些负调节因子有协同作用, 共同调控其表达? 另一方面转录抑制因子的作用机制也存在许多问题尚待解决, 例如 EAR 类主动抑制因子发挥作用时共抑制子 (co-repressors) 的具体功能, 及其对染色质的修饰机理等; 另外今后应集中鉴定新的负调控因子或保守抑制基序, 同时针对某一抑制因子深入了解其参与不同代谢路径中的调控机理, 以获得更多有关负向调控花青素合成机制的信息, 完善整个信号网络。对于含有 EAR 基序的转录因子的研究才刚开始, 但其抑制域却已被用于基因改造中, 如融合抑制子沉默技术 (chimeric repressor silencing technology, CRES-T), 利用 EAR 基序加入到转录激活子的 C-末端从而抑制植物内源靶标的基因表达 (Hiratsu et al., 2003; Matsui et al., 2008; Nakata et al., 2013), 因此可以利用抑制因子发掘更多鉴定转录因子功能和转基因性状改良的新技术。总之, 进一步对花青素积累负调控因子的抑制机制进行研究, 对于更好地理解其基因调控模式和揭示新的分子机理有重要作用, 同时为人工调节植物色素含量, 改善植物营养及观赏价值提供了新思路。

References

- Aharoni A, De vos C, Wein M, Sun Z, Greco R, Kroon A, Mol J N, O'connell A P. 2001. The strawberry FaMYB1 transcription factor suppresses anthocyanin and flavonol accumulation in transgenic tobacco. *The Plant Journal*, 28 (3): 319 - 332.
- Akifumi A, Shozo K, Nobuhito M, Mikio S. 2008. Genomic and genetic analysis of MYB-related genes that regulate anthocyanin biosynthesis in grape berry skin. *Theoretical and Applied Genetics*, 117 (6): 1009 - 1019.
- Albert N W, Lewis D H, Zhang H, Schwinn K E, Jameson P E, Davies K M. 2011. Members of an R2R3-MYB transcription factor family in *Petunia* are developmentally and environmentally regulated to control complex floral and vegetative pigmentation patterning. *The Plant Journal*, 65 (5): 771 - 784.
- Brodersen P, Voinnet O. 2006. The diversity of RNA silencing pathways in plants. *Trends in Genetics*, 22 (5): 268 - 280.
- Burr F A, Burr B, Scheffler B E, Blewitt M, Wienand U, Matz E C. 1996. The maize repressor-like gene intensifier 1 shares homology with the r1/b1

- multigene family of transcription factors and exhibits missplicing. *The Plant Cell*, 8 (8): 1249 – 1259.
- Chen B, Wang X, Hu Y, Wang Y, Lin Z. 2004. Ectopic expression of a *c1-I* allele from maize inhibits pigment formation in the flower of transgenic tobacco. *Molecular Biotechnology*, 26 (3): 187 – 192.
- Chen Z, Nimmo G, Jenkins G, Nimmo H. 2007. BHLH32 modulates several biochemical and morphological processes that respond to Pi starvation in *Arabidopsis*. *Biochemical Journal*, 405: 191 – 198.
- Cominelli E, Galbiati M, Vavasseur A, Conti L, Sala T, Vuylsteke M, Leonhardt N, Dellaporta S L, Tonelli C. 2005. A guard-cell-specific MYB transcription factor regulates stomatal movements and plant drought tolerance. *Current Biology*, 15 (13): 1196 – 1200.
- Das P K, Shin D H, Choi S, Park Y. 2012. Sugar-hormone cross-talk in anthocyanin biosynthesis. *Molecules and Cells*, 34 (6): 501 – 507.
- Dubos C, Le gourrierec J, Baudry A, Huep G, Lanet E, Debeaujon I, Routaboul J, Alboresi A, Weissshaar B, Lepiniec L. 2008. MYB2 is a new regulator of flavonoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 55 (6): 940 – 953.
- Dubos C, Stracke R, Grotewold E, Weissshaar B, Martin C, Lepiniec L. 2010. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*, 15 (10): 573 – 581.
- Fan Hong-hui, Huang Min-ling. 2013. Progress in regulation of anthocyanins. *Chinese Journal of Cell Biology*, 35 (5): 741 – 746. (in Chinese)
- 樊荣辉, 黄敏玲. 2013. 花青素苷调控研究进展. *中国细胞生物学学报*, 35 (5): 741 – 746.
- Fornale S, Lopez E, Salazar-henao J E, Fernández-nohales P, Rigau J, Caparros-ruiz D. 2014. AtMYB7, a new player in the regulation of UV-Sunscreeners in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 55 (3): 507 – 516.
- Gao J, Shen X, Zhang Z, Peng R, Xiong A, Xu J, Zhu B, Zheng J, Yao Q. 2011. The MYB transcription factor MdMYB6 suppresses anthocyanin biosynthesis in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 106 (2): 235 – 242.
- Gou J, Felippes F F, Liu C, Weigel D, Wang J. 2011. Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* by a miR156-targeted SPL transcription factor. *The Plant Cell*, 23 (4): 1512 – 1522.
- Heim M A, Jakoby M, Werber M, Martin C, Weissshaar B, Bailey P C. 2003. The basic helix – loop – helix transcription factor family in plants: A genome-wide study of protein structure and functional diversity. *Molecular Biology and Evolution*, 20 (5): 735 – 747.
- Hemm M R, Herrmann K M, Chapple C. 2001. AtMYB4: A transcription factor general in the battle against UV. *Trends in Plant Science*, 6 (4): 135 – 136.
- Hiratsu K, Kyoko M, Koyama T, Ohme-Takagi M. 2003. Dominant repression of target genes by chimeric repressors that include the EAR motif, a repression domain, in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 34 (5): 733 – 739.
- Hsieh L, Lin S, Shih A C, Chen J, Lin W, Tseng C, Li W, Chiou T. 2009. Uncovering small RNA-mediated responses to phosphate deficiency in *Arabidopsis* by deep sequencing. *Plant Physiology*, 151 (4): 2120 – 2132.
- Jaakola L. 2013. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends in Plant Science*, 18 (9): 477 – 483.
- Jeong S, Das P K, Jeoung S C, Song J, Lee H K, Kim Y, Kim W J, Park Y I, Yoo S, Choi S. 2010. Ethylene suppression of sugar-induced anthocyanin pigmentation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 154 (3): 1514 – 1531.
- Jin H, Cominelli E, Bailey P, Parr A, Mehrtens F, Jones J, Tonelli C, Weissshaar B, Martin C. 2000. Transcriptional repression by AtMYB4 controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis*. *The Embo Journal*, 19 (22): 6150 – 6161.
- Kagale S, Rozwadowski K. 2011. EAR motif-mediated transcriptional repression in plants: An underlying mechanism for epigenetic regulation of gene expression. *Epigenetics*, 6 (2): 141.
- Koes R, Verweij W, Quattrocchio F. 2005. Flavonoids: A colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Science*, 10 (5): 236 – 242.
- Krogan N T, Long J A. 2009. Why so repressed? Turning off transcription during plant growth and development. *Current Opinion in Plant Biology*, 12 (5): 628 – 636.
- Kui L W, Karen B, Karryn G. 2010. An R2R3 MYB transcription factor associated with regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway in Rosaceae. *BMC Plant Biology*, 10: 50.
- Kui L, Micheletti D, Palmer J, Volz R, Lozano L, Espley R, Hellens R P, Chagne D, Rowan D D, Troglio M. 2011. High temperature reduces apple fruit colour via modulation of the anthocyanin regulatory complex. *Plant Cell & Environment*, 34 (7): 1176 – 1190.
- Li Wen-yang, Ma Meng-di, Guo Hong-wei. 2013. Advances in the action of plant hormone ethylene. *Scientia Sinica Vitae*, 43 (10): 854 – 863. (in

Chinese)

李文阳, 马梦迪, 郭红卫. 2013. 植物激素乙烯作用机制的最新进展. 中国科学: 生命科学, 43 (10): 854 - 863.

Liu Xiao-fen, Li Fang, Yin Xue-ren, Xu Chang-jie, Chen Kun-song. 2013. Recent advances in the transcriptional regulation of anthocyanin biogenesis. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (11): 2295 - 2306. (in Chinese)

刘晓芬, 李 方, 殷学仁, 徐昌杰, 陈昆松. 2013. 花青素生物合成转录调控研究进展. 园艺学报, 40 (11): 2295 - 2306.

Luo Q, Mittal A, Jia F, Rock C D. 2012. An autoregulatory feedback loop involving PAP1 and TAS4 in response to sugars in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 80 (1): 117 - 129.

Maier A, Schrader A, Kokkelink L, Falke C, Welter B, Iniesto E, Rubio V, Uhrig J F, Hülskamp M, Hoecker U. 2013. Light and the E3 ubiquitin ligase COP1/SPA control the protein stability of the MYB transcription factors PAP1 and PAP2 involved in anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 74 (4): 638 - 651.

Matsui K, Umemura Y, Ohmetakagi M. 2008. AtMYBL2, a protein with a single MYB domain, acts as a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 55 (6): 954 - 967.

Nakata M, Mitsuda N, Herde M, Koo A J, Moreno J E, Suzuki K, Howe G A, Ohme-takagi M. 2013. A bHLH-type transcription factor, ABA-INDUCIBLE BHLH-TYPE TRANSCRIPTION FACTOR/JA-ASSOCIATED MYC2-LIKE1, acts as a repressor to negatively regulate jasmonate signaling in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 25 (5): 1641 - 1656.

Nakatsuka T, Yamada E, Saito M, Fujita K, Nishihara M. 2013. Heterologous expression of gentian MYB1R transcription factors suppresses anthocyanin pigmentation in tobacco flowers. *Plant Cell Reports*, 32 (12): 1925 - 1937.

Nemie-feyissa D, Olafsdottir S M, Heidari B, Lillo C. 2014. Nitrogen depletion and small R3-MYB transcription factors affecting anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* leaves. *Phytochemistry*, 98: 34 - 40.

Paolocci F, Robbins M P, Passeri V, Hauck B, Morris P, Rubini A, Arcioni S, Damiani F. 2011. The strawberry transcription factor FaMYB1 inhibits the biosynthesis of proanthocyanidins in *Lotus corniculatus* leaves. *Journal of Experimental Botany*, 62 (3): 1189 - 1200.

Park J, Kim J, Cho K, Cheon C, Sung M, Choung M, Roh K. 2008. *Arabidopsis* R2R3-MYB transcription factor AtMYB60 functions as a transcriptional repressor of anthocyanin biosynthesis in lettuce (*Lactuca sativa*). *Plant Cell Reports*, 27 (6): 985 - 994.

Patra B, Schluttenhofer C, Wu Y, Pattanaik S, Yuan L. 2013. Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis in plants. *Biochimica et Biophysica Acta-Gene Regulatory Mechanisms*, 1829 (11): 1236 - 1247.

Petroni K, Tonelli C. 2011. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Science*, 181 (3): 219 - 229.

Qi T, Song S, Ren Q, Wu D, Huang H, Chen Y, Fan M, Peng W, Ren C, Xie D. 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 (5): 1795 - 1814.

Ramsay N A, Glover B J. 2005. MYB - bHLH - WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity. *Trends in Plant Science*, 10 (2): 63 - 70.

Rouached H, Arpat A B, Poirier Y. 2010. Regulation of phosphate starvation responses in plants: Signaling players and cross-talks. *Molecular Plant*, 3 (2): 288 - 299.

Rubin G, Tohge T, Matsuda F, Saito K, Scheible W. 2009. Members of the LBD family of transcription factors repress anthocyanin synthesis and affect additional nitrogen responses in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 21 (11): 3567 - 3584.

Salvatierra A, Pimentel P, Moya-león M A, Herrera R. 2013. Increased accumulation of anthocyanins in *Fragaria chiloensis* fruits by transient suppression of *FcMYB1* gene. *Phytochemistry*, 90: 25 - 36.

Sasaki-sekimoto Y, Jikumar Y, Obayashi T, Saito H, Masuda S, Kamiya Y, Ohta H, Shirasu K. 2013. BHLH transcription factors JA-ASSOCIATED MYC2-LIKE 1, JAM2 and JAM3 are negative regulators of jasmonate responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 163 (1): 291 - 304.

Schiefelbein J. 2003. Cell-fate specification in the epidermis: A common patterning mechanism in the root and shoot. *Current Opinion in Plant Biology*, 6 (1): 74 - 78.

Shin D H, Choi M, Kim K, Bang G, Cho M, Choi S, Choi G, Park Y. 2013. HY5 regulates anthocyanin biosynthesis by inducing the transcriptional activation of the MYB75/PAP1 transcription factor in *Arabidopsis*. *Febs Letters*, 587 (10): 1543 - 1547.

- Song S, Qi T, Fan M, Zhang X, Gao H, Huang H, Wu D, Guo H, Xie D. 2013. The bHLH subgroup IIIId factors negatively regulate jasmonate-mediated plant defense and development. *Plos Genetics*, 9 (7): e1003653.
- Stracke R, Werber M, Weisshaar B. 2001. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Current Opinion in Plant Biology*, 4 (5): 447 - 456.
- Tamagnone L, Merida A, Parr A, Mackay S, Culianez-macia F A, Roberts K, Martin C. 1998. The AmMYB308 and AmMYB330 transcription factors from *Antirrhinum* regulate phenylpropanoid and lignin biosynthesis in transgenic tobacco. *The Plant Cell*, 10 (2): 135 - 154.
- Telias A, Lin-wang K, Stevenson D E, Cooney J M, Hellens R P, Allan A C, Hoover E E, Bradeen J M. 2011. Apple skin patterning is associated with differential expression of MYB10. *BMC Plant Biology*, 11 (1): 93.
- Wade H K, Sohal A K, Jenkins G I. 2003. *Arabidopsis* ICX1 is a negative regulator of several pathways regulating flavonoid biosynthesis genes. *Plant Physiology*, 131 (2): 707 - 715.
- Wang Y, Zhou B, Sun M, Li Y, Kawabata S. 2012. UV-A light induces anthocyanin biosynthesis in a manner distinct from synergistic blue + UV-B light and UV-A/blue light responses in different parts of the hypocotyls in turnip seedlings. *Plant and Cell Physiology*, 53 (8): 1470 - 1480.
- Wang Z, Meng D, Wang A, Li T, Jiang S, Cong P, Li T. 2013. The methylation of the *PcMYB10* promoter is associated with green-skinned sport in *Max Red Bartlett* pear. *Plant Physiology*, 162 (2): 885 - 896.
- Wu R, Wang T, McGie T, Voogd C, Allan A C, Hellens R P, Varkonyi-Gasic E. 2014. Overexpression of the kiwifruit *SVP3* gene affects reproductive development and suppresses anthocyanin biosynthesis in petals, but has no effect on vegetative growth, dormancy, or flowering time. *Journal of Experimental Botany*, 65 (13): 264 - 275.
- Xu F, Ning Y, Zhang W, Liao Y, Li L, Cheng H, Cheng S. 2014. An R2R3-MYB transcription factor as a negative regulator of the flavonoid biosynthesis pathway in *Ginkgo biloba*. *Functional & Integrative Genomics*, 14 (1): 177 - 189.
- Xu W, Grain D, Gourrierc J, Harscoët E, Berger A, Jauvion V, Scagnelli A, Berger N, Bidzinski P, Kelemen Z. 2013. Regulation of flavonoid biosynthesis involves an unexpected complex transcriptional regulation of *TT8* expression, in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 198 (1): 59 - 70.
- Yang F, Cai J, Yang Y, Liu Z. 2013. Overexpression of microRNA828 reduces anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 115 (2): 159 - 167.
- Zeng L R, Vega-Sánchez M E, Zhu T, Wang G L. 2006. Ubiquitination-mediated protein degradation and modification: An emerging theme in plant-microbe interactions. *Cell Research*, 16 (5): 413 - 426.
- Zhou B, Li Y, Xu Z, Yan H, Homma S, Kawabata S. 2007. Ultraviolet A-specific induction of anthocyanin biosynthesis in the swollen hypocotyls of turnip (*Brassica rapa*). *Journal of Experimental Botany*, 58 (7): 1771 - 1781.
- Zhou L, Shi M, Xie D. 2012. Regulation of anthocyanin biosynthesis by nitrogen in TTG1 - GL3/TT8 - PAP1-programmed red cells of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 236 (3): 825 - 837.
- Zhu H, Fitzsimmons K, Khandelwal A, Kranz R G. 2009. CPC, a single-repeat R3 MYB, is a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 2 (4): 790 - 802.

征 订

欢迎订阅 2015 年《河北果树》

《河北果树》：是河北省果树学会主办的果树专业技术期刊，中国核心期刊（遴选）数据库、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊，中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库收录期刊，河北省优秀科技期刊。主要刊登落叶果树的品种资源、栽培管理、病虫害防治、储藏加工等方面的新成果、新技术、新知识和新信息，开设栏目有专题论述、试验研究、经验交流、百花园、工作历、广告与信息。本刊特色是通俗易懂、科学实用、技术先进、内容丰富、信息量大、可读性强、发行面广。读者对象为果树科研和推广人员、农林院校师生、各级涉农领导和广大果农。本刊国内外公开发行，双月刊，单月 15 日出版，国际标准大 16 开 64 页，每期定价 5.00 元，全年 6 期共 30.00 元。欢迎广大果农和果树科技工作者到当地邮局（所）订阅，邮发代号 18-247。未能从邮局订上本刊的读者，全年都可随时直接汇款至编辑部订阅，免费邮寄。编辑部尚有 2004—2014 年合订本可邮购。同时欢迎投稿和发布广告。

地址：河北省昌黎果树研究所《河北果树》编辑部，邮编：066600，联系电话：0335-2987632（兼传真），电子邮箱：hbgsbjb@sohu.com；2567147533@qq.com。