

樊勇, 孙悦, 录亿隆, 等. 观赏植物花青素合成调控机理及组学技术应用[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(4): 810-822.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.04.019

观赏植物花青素合成调控机理及组学技术应用

樊勇¹, 孙悦², 录亿隆¹, 于春雷¹, 李跃飞³, 孙文松¹, 孙红梅²

(1. 辽宁省农业科学院经济作物研究所, 辽宁 辽阳 111000; 2. 沈阳农业大学园艺学院, 辽宁 沈阳 110161; 3. 锦州医科大学食品与健康学院, 辽宁 锦州 121001)

摘要: 花色是观赏植物的重要表型特征, 对提升其商品价值具有重要意义。花青素是观赏植物花瓣着色的主要物质, 花青素的合成除了受到环境因素影响外, 主要受植物内在结构基因和转录因子的调控。近年来随着研究技术的发展, 转录组学、代谢组学、蛋白质组学等得以广泛应用, 为花青素合成机理的研究提供了新的方法和手段。本文结合国内外观赏植物花青素生物合成调控的研究成果, 综述花青素的结构、生物合成途径、关键结构基因、转录因子以及组学在研究中的应用, 阐明花青素合成相关基因的调控机理, 以为观赏植物花色分子改良和新奇品种选育提供理论参考。

关键词: 观赏植物; 花青素合成; 调控机理; 组学

中图分类号: S68; Q946.83⁺6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)04-0810-13

Regulation mechanism of anthocyanin biosynthesis and application of omics techniques in ornamental plants

FAN Yong¹, SUN Yue², LU Yilong¹, YU Chunlei¹, LI Yuefei³, SUN Wensong¹, SUN Hongmei²

(1. Liaoning Research Institute of Cash Crops, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Liaoyang 111000, China; 2. Horticultural College of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; 3. School of Food and Health, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, China)

Abstract: Flower color is an important phenotypic characteristic of ornamental plants, which is of great significance in enhancing their commercial value. Anthocyanins are the main substances for the petal pigmentation of ornamental plants, and the anthocyanin biosynthesis is mainly regulated by the internal structural genes and transcription factors of plants, in addition to the influence of environment. In recent years, with the development of research technology, the widespread application of transcriptomics, metabolomics, and proteomics has provided new methods and means for the study of anthocyanin synthesis mechanism. Based on the research results of anthocyanin biosynthesis regulation in ornamental plants at home and abroad, we reviewed the structure of anthocyanins, biosynthetic pathways, key structural genes, transcription factors and the application of omics, and elaborated the regulatory mechanism of genes related to anthocyanin biosynthesis. The aim is to provide theoretical reference for the molecular improvement of flower color and the breeding of novel varieties of ornamental plants.

Key words: ornamental plants; anthocyanin biosynthesis; regulation mechanism; omics

收稿日期: 2024-11-07

基金项目: 国家现代农业产业体系建设项目(CARS-21-06)

作者简介: 樊勇(1984-), 男, 内蒙古丰镇人, 博士, 助理研究员, 主要从事观赏植物和中药材种质资源创新和新品选育工作。
(E-mail) fanyongzh@126.com

通讯作者: 孙文松, (E-mail) sunwensong12@126.com; 孙红梅(E-mail) hmbh@sina.com

观赏植物的花色缤纷艳丽, 其特殊表型对整个植株审美价值的提升具有重要意义^[1]。花色素是影响花色形成的重要因素, 研究发现植物色素的种类主要有类黄酮、生物碱和类胡萝卜素^[2]。花青素

是自然界存在最普遍、分布最广泛的次生代谢物质,是植物花色形成过程中最常见的一类类黄酮物质。花青素主要以糖苷基化的形式分布在植物的液泡中,是促使植物花瓣、叶片、种子、果实呈现不同颜色的主要色素物质^[3]。此外,花青素还是植物应对环境胁迫的重要调控物质,可以减轻植物细胞遭受干旱、紫外线、真菌等外界胁迫造成的损伤^[4]。

前人对观赏植物呈色机理进行了深入研究,发现花色、叶色等形成受环境因素和自身基因调控,环境因素包括 pH 值、光照、温度、矿物质含量等^[5],但是观赏植物自身基因的调控作用对花青素合成的种类及含量影响最直接。伴随植物着色过程,一系列相关的结构基因及转录因子编码的关键酶会调控花青素的生物合成^[6],随着科学技术的发展,高通量测序技术为观赏植物花色呈色机制的组学研究提供了新的方法。

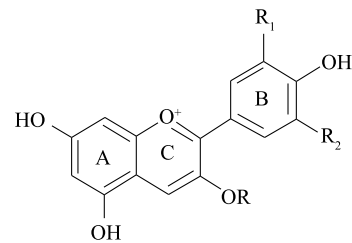
基于花青素合成相关的花色调控技术已经得到了广泛的研究和应用,但是有关花青素积累与基因表达之间关系的研究还不够深入,特别是组学技术在该领域的应用还不够成熟、分析不够全面。为了揭示观赏植物花青素呈色机制,本文综述了花青素的结构、生物合成途径以及相关结构基因和转录因子的调控机理,并结合组学技术在相关方面的应用,解析不同基因表达与观赏植物着色之间的关系,进一步揭示黄酮类色素的代谢途径,为建立花青素的分子调控网络提供参考,对观赏植物花色的分子设计育种和优质品种定向选育具有重要参考价值。

1 花青素的结构及生物合成途径

1.1 花青素苷的结构及种类

花青素又称为花色素,是一类天然的水溶性植物色素物质,以糖苷基化形式稳定存在^[7-8]。植物通过类黄酮途径产生黄酮、黄酮醇、异黄酮、黄烷酮、花青素等代谢物,花青素生物合成途径是类黄酮生物合成途径的一个重要分支。许多观赏植物富含花青素,在菊花(*Chrysanthemum morifolium*)^[9]、紫罗兰(*Matthiola incana*)^[10]、嘉兰(*Gloriosa superba*)^[11]、花毛茛(*Ranunculus asiaticus* L.)^[12]、大花卷丹(*Lilium leichlinii* var. *maximowiczii*)^[13]、矮牵牛(*Petunia hybrida*)^[14]等植物中均有相关报道。由于不同植物营养器官和生殖器官中花青素的含量和组成不同,所以植物产生了橙色、红色、紫色和蓝色等不同的颜

色特征^[15-16]。花青素经过糖基化、酰基化、甲基化修饰作用后形成花青素苷,花青素苷的结构较多,进而形成丰富的花色类型^[17]。植物中常见的花青素有飞燕草色素、矢车菊色素、天竺葵色素、矮牵牛色素、锦葵色素、芍药色素等,其中矮牵牛色素、锦葵色素由飞燕草色素甲基化衍生而来,芍药色素由矢车菊色素甲基化衍生而来^[18]。如图 1 所示,当花青素花色基团的位置被不同基团取代会形成不同的花青素,产生相对应的花色,如橙色、红色、紫色和蓝色等。随着花青素羟基化程度加深花瓣的颜色偏紫色,随着甲基化、糖基化加深而红色增强,随着酰基化加深而蓝色增强^[19-20]。



R₁=H, R₂=H: 天竺葵色素(Pelargonidin);
R₁=OH, R₂=OH: 飞燕草色素(Delphinidin);
R₁=OH, R₂=H: 矢车菊色素(Cyaniding);
R₁=OH, R₂=OCH₃: 矮牵牛色素(Petunidin);
R₁=OCH₃, R₂=OCH₃: 锦葵色素(Malvidin);
R₁=OCH₃, R₂=H: 芍药色素(Peonidin);
R: 葡萄糖基

图 1 花青素结构图

Fig.1 Structure diagram of anthocyanins

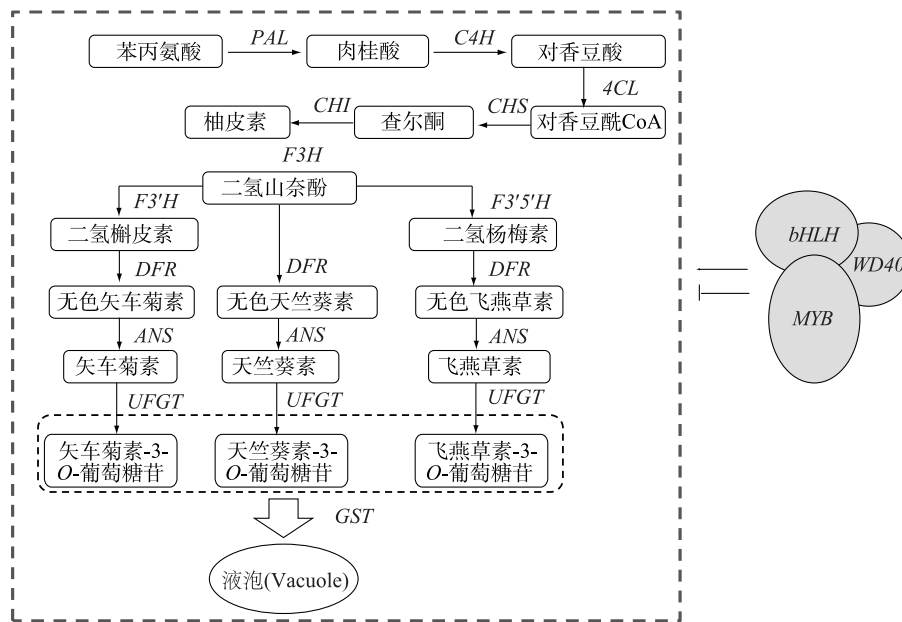
在植物的不同部位、不同发育时期花青素种类及含量存在差异,同时因气候和栽培品种的不同花青素也存在较大差异。在高等植物中,花瓣丰富的色彩可以吸引各种动物进行传粉和传播种子,但也可在野外被植物用作警告颜色^[21-22]。花青素可以有效过滤紫外线,使植物免受辐射损伤,同时花青素还可以增强植物对低温胁迫的抵抗力^[23]。植物果实的成熟需要适当的光刺激,紫外光作为植物可以感受的一种环境信号,影响类黄酮代谢途径以及花青素的合成水平^[24],Kataoka 等^[25]研究发现紫外光可以增强桃(*Prunus persica*)果皮中花青素的积累。

1.2 花青素的生物合成途径

花青素的生物合成途径和基因调控网络在许多植物中存在较为相似的模式,被认为是高度保守的^[26],如图 2 所示,花青素苷主要在多个结构基因和调控因子的作用下,通过花青素生物合成途径合

成^[27]。前人已从金鱼草 (*Antirrhinum majus*)、矮牵牛、蝴蝶兰 (*Phalaenopsis*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、卵叶牡丹 (*Paeonia qiui*) 等观赏植物中克隆分离出与花青素合成相关的关键基因, 并对其功能进行了验证^[28-31]。苯丙氨酸作为花青素和其他黄酮类化合物生物合成的初始前体物质, 在苯丙氨酸解氨酶 (*PAL*)、肉桂酸 4-羟化酶 (*C4H*)、4-香豆酰辅酶 A 连接酶 (*4CL*)、查尔酮合酶 (*CHS*)、查尔酮异构酶 (*CHI*) 催化作用下合成无色的柚皮素, 随后柚皮素

在黄烷酮 3-羟化酶 (*F3H*)、类黄酮 3'-羟化酶 (*F3'H*)、类黄酮 3',5'-羟化酶 (*F3'5'H*) 和二氢黄酮醇 4-还原酶 (*DFR*) 催化作用下合成无色花青素^[32-33], 最后不稳定的花青素通过花青素合成酶 (*ANS*)、udp-葡萄糖-类黄酮 3-O-葡萄糖基转移酶 (*UFGT*) 转化成稳定的花青素苷, 呈现红色、粉色、蓝色、紫色等颜色。MYB、bHLH 和 WD40 等转录因子通过对花青素合成的关键结构基因进行转录调控, 从而影响花色的形成^[34-35]。



PAL: 苯丙氨酸解氨酶; *C4H*: 肉桂酸 4-羟化酶; *4CL*: 4-香豆酰辅酶 A 连接酶; *CHS*: 查尔酮合酶; *CHI*: 查尔酮异构酶; *F3H*: 黄烷酮 3-羟化酶; *F3'H*: 类黄酮 3'-羟化酶; *F3'5'H*: 类黄酮 3',5'-羟化酶; *DFR*: 二氢黄酮醇 4-还原酶; *ANS*: 花青素合成酶; *UFGT*: udp-葡萄糖-类黄酮 3-O-葡萄糖基转移酶; *GST*: 谷胱甘肽 S-转移酶。

图 2 花青素生物合成途径

Fig.2 Anthocyanin biosynthesis pathway

2 花青素生物合成中的主要结构基因

苯丙氨酸解氨酶 (*PAL*) 是花青素生物合成前期的关键酶^[36], 催化 *L*-苯丙氨酸脱掉氨转化成反式肉桂酸。许多植物的花青素含量与 *PAL* 活性有关^[37], 溱水金凤 (*Impatiens uliginosa*) 的 *IuPAL1* 和 *IuPAL2* 基因在深红色花被中的表达量最高, 促进花青素的显著积累^[38], 戊糖代谢途径中合成的苯丙酮酸在 *PAL* 的作用下可减少与氨的结合, 朝着花青素合成方向发展^[39]。*PAL* 是连接初级代谢和苯丙氨酸代谢的必需酶^[40], 植物通过苯丙素途径合成多种重要的次生代谢物质, 除了生成花青素外, 还生成木质

素、类黄酮、植保素等物质。

查尔酮合酶 (*CHS*) 可以将 1 分子香豆酰 CoA 和 3 分子丙二酰 CoA 缩合成查尔酮, 是黄酮类物质合成的关键聚合酶^[41]。作为合成花青素等重要化合物的前体物质, 查尔酮经过其他酶的催化作用合成不同的中间产物, 包括黄酮、黄酮醇、异黄酮、白藜芦醇、花青素等。Huang 等^[42] 研究发现, 马缨杜鹃 (*Rhododendron delavayi*) 的 *RdCHS1* 基因参与类黄酮的合成, 在烟草中过表达 *RdCHS1* 基因, 可使烟草的花色由浅粉色转变为深粉色。*CHS* 属于一个多基因家族编码的酶, 在不同物种间 *CHS* 的结构具有一定的保守性。*CHS* 基因在不同植物、不同组织器官

中存在不同的表达和调控机制^[43],所以研究 *CHS* 基因的分子特性具有重要意义。

查尔酮异构酶(*CHI*) 在植物体内一般以单体形式存在,但在不同物种或者不同组织中的相对分子量有差异。*CHI* 催化查尔酮分子异构化形成(2S)-黄烷酮,再通过其他酶催化进一步衍生为黄酮类物质,包括黄酮、异黄酮、黄酮醇和花青素^[44]。已有研究发现 *CHI* 基因可以促进类黄酮和花青素的合成,在日本牵牛(*Ipomoea nil*) 中 *CHI* 基因编码的 EFP 蛋白参与了类黄酮生物合成的早期阶段,确保了类黄酮化合物的生成和花色素的沉积^[45];在拟南芥突变体中,*CHI(u5)* 基因功能的丧失导致类黄酮和花青素含量降低,促使种皮变黄^[46]。

类黄酮 3',5'-羟化酶(*F3'5'H*) 属于细胞色素 P450 家族,可以催化二氢黄酮醇 B 环 3',5' 位置合成羟基化的类黄酮^[47]。已有报道将桔梗(*Platycodon grandiflorus*) *PgF3'5'H* 基因转化到烟草(*Nicotiana tabacum*) 中过表达,烟草植株合成花青素的种类和含量均呈增加趋势,烟草花色由浅粉色转变为品红色^[48]。前人研究发现豌豆(*Pisum sativum*) 突变体由于缺乏 *F3'5'H* 基因,不能合成飞燕草色素和矮牵牛色素而出现粉色花,这两种色素是野生型豌豆紫色花的主要着色物质^[49]。

二氢黄酮醇 4-还原酶(*DFR*) 是花青素合成过程中的关键节点调控酶,可催化二氢山奈酚、二氢杨梅素、二氢槲皮素 3 种黄酮醇分别合成无色天竺葵素、无色飞燕草素、无色矢车菊素^[50-51]。*DFR* 基因在不同植物、不同组织器官、不同发育阶段的表达存在特异性,有研究表明,*DFR* 基因在菊花舌状花初露伸长、花瓣伸长时表达水平升高,随着花序的开放其表达水平逐渐降低^[52]。Zan 等^[53] 发现玫瑰(*Rosa rugosa*) *RrCCoAOMT1* 基因沉默时,过表达 *RrDFR1* 基因可以提高矢车菊素-3,5-双葡萄糖苷和芍药素-3,5-葡萄糖苷的含量,使红色花瓣颜色更浓。

在花青素生物合成途径末端,无色花青素在花青素合成酶(*ANS*) 的作用下被催化转变为有色的花青素^[54]。作为花青素合成后期重要的调节酶,在拟南芥中发现 *ANS* 的活性位点由金属离子、共底物和两分子的底物类似物(二氢槲皮素) 共同构成^[55]。*ANS* 基因在观赏植物花色素的呈色过程中发挥重要的调控作用^[56],有研究发现 *ANS* 基因的表达量与花

青素的合成呈现正相关关系^[57],其功能的缺失会导致植物器官转变为无色或白色。Aharoni 等^[58] 发现抑制草莓(*Fragaria×ananassa* Duch.) *ANS* 基因的表达导致有色花青素无法合成,使草莓花朵的颜色由粉色转变成了白色。

黄酮醇合成酶(*FLS*) 属于 2-氧酮戊二酸依赖型双加氧酶(2-*ODD*) 家族,是一种催化二氢黄酮醇转化为黄烷醇的可溶性酶^[59]。Luo 等^[60] 研究表明,在类黄酮生物合成通路中 *FLS* 和 *DFR* 共同竞争底物二氢黄酮醇,分别合成无色黄醇酮和有色花青素。*FLS* 基因在观赏植物着色过程中发挥重要的调控作用,已有研究结果证明矮牵牛 *FLS* 基因的反义表达减少了黄酮醇的合成,促进花青素的生物合成,使花瓣和花丝由浅粉色变为红色^[61];草原龙胆(*Eustoma grandiflorum*) 反义表达 *FLS* 基因的植株比未转化植株的花瓣颜色更红^[62]。

UDP-葡萄糖-类黄酮 3-O-葡萄糖基转移酶(*UFGT*) 通过将花青素苷元的 C-3 位糖基化形成稳定的花青素苷,然后花青素苷被转运到细胞液泡中^[56,63]。*UFGT* 可以在花青素疏水分子中加入糖残基,增加花青素的溶解度和稳定性,促进花青素苷的形成,花青素苷通过分子间和分子内的堆叠效应影响花瓣颜色^[64]。已有报道日本牵牛花(*Ipomoea nil*) 和圆叶牵牛花(*Ipomoea purpurea*) 突变体的 *UFGT* 基因发生移码突变而丧失活性,导致花朵中花青素积累量减少了约 80%,突变体花色因此变浅^[65]。

3 花青素生物合成相关转录因子

花青素生物合成主要通过转录因子在转录水平对结构基因进行调控完成^[26]。迄今为止,已发现 MYB、bHLH、WD40、锌指(Zinc finger)、MADS 和 WRKY 等转录因子可以调控花青素的生物代谢过程^[66-67]。To 等^[68] 报道在花青素合成通路中,MYB、bHLH 和 WD40 这 3 个主要转录因子家族特异性调控结构基因的表达,进而影响花色素的合成。

3.1 MYB 类转录因子

MYB 转录因子具有两个不同的功能域,一个高度保守的 MYB DNA-binding 结合域和一个可调控蛋白质活性的 C-terminal 调节域^[69],根据 MYB 结构域的重复次数,MYB 被分为 4 大类,即 R1、R2R3、R1R2R3 和 4R-MYB^[70]。通过对拟南芥^[71] 和玉米(*Zea mays*)^[72] R2R3-MYB 的研究发现该基因家族

的规模较大,尽管 MYB 结构域外的氨基酸序列存在差异,但仍有一些保守的基序有助于识别 R2R3 型 MYB 转录因子 DNA 结合域外的功能域。植物中的 R2R3-MYB 家族成员已被证实主要参与调控花青素的生物合成^[73]。R2R3-MYB 可以作为正调控因子和负调控因子调控植物不同器官中花青素合成的种类和含量水平^[74]。

已有研究发现,在园艺植物中过表达 MYB 基因能够促进花青素的积累^[75-76],在苹果果皮中过表达蓝星睡莲(*Nymphaea colorata*) *NcMYB25* 基因,可以显著增加果皮花青素的含量^[77]。过表达 *AN4* (*R2R3-MYB* 编码基因)可以促进矮牵牛 *CHS*、*F3H* 和 *DFR* 基因的表达,进而增强花青素的生物合成^[78]。对牡丹(*Paeonia suffruticosa*) 转录因子 *PsMYB114L*、*PsMYB12L* 基因进行异源表达,发现这两个转录因子特异性调控 *DFR* 和 *ANS* 基因表达,促进花青素的沉积^[79]。在蝴蝶兰研究中发现 *PeMYB2*、*PeMYB11* 和 *PeMYB12* 转录因子可以激活 3 个下游结构基因 *F3H*、*DFR* 和 *ANS* 的表达,促进花瓣中花青素生物合成,这 3 个 *PeMYB* 还参与了单个花不同部位的色素沉着,促进萼片和花瓣中红色斑点及脉纹状表型的形成^[80]。

MYB 类转录因子可以与结构基因共同作用,抑制花青素的生物合成。已有报道发现,菊花 *CmMYB4* 和 *CmMYB5* 转录因子基因异源表达导致花青素含量降低^[81],*PtrMYB182* 转录因子基因在杨树(*Populus species*)中过表达降低了花青素的积累^[82]。在葡萄(*Vitis vinifera*)中 *R2R3-MYB* 转录因子基因的表达水平与色素沉着密切相关^[74],*R2R3-MYB* 转录因子基因在烟草中异源表达可以抑制花青素合成,使花瓣几乎转变为白色^[58,83]。Albert 等^[84]研究发现,*PhMYB27* 是矮牵牛花青素生物合成的抑制因子,*RNAi* 转录因子 *PhMYB27* 增加了矮牵牛花青素积累,而过表达则降低了其花青素的生物合成。通过郁金香(*Tulipa gesneriana* L.) *TgMYB4* 转录因子基因在烟草中过表达,发现 *ANS* 和 *DFR* 基因的转录水平严重降低,抑制了花青素的合成,减少了花瓣中色素沉积^[85]。

3.2 bHLH 类转录因子

bHLH 转录因子由氨基酸末端的碱性结构域和羧基末端的 α 螺旋-环- α 螺旋结构域(HLH 结构域)组成,每个结构域是由 60 个左右保守氨基酸残基构

成的多肽序列。碱性结构域参与 bHLH 转录因子与 DNA 顺式元件 E-box 或 G-box 结合,HLH 结构域由两个含有疏水残基的 α 螺旋形成二聚体,改变不同信号通路靶基因的表达^[86]。bHLH 作为调控花青素合成的重要的调控因子,可以与结构基因的启动子结合激活对应基因的活性,在花青素生物合成通路中发挥重要作用^[87-88]。

bHLH 通过直接调控结构基因(*DFR*、*ANS*、*UGT*)的表达水平调控花青素的生物合成。在石斛(*Dendrobium*)中通过转录组分析鉴定到 *DhbHLH1* 转录因子,*DhbHLH1* 可以与 *DhMYB2* 结合激活花瓣中 *DhDFR* 和 *DhANS* 基因的启动子,调控花青素的生物合成^[89]。拟南芥中与黄酮类合成相关的 bHLH 已被归为 IIIf 亚组^[90],bHLH 转录因子 *AtGL3*、*AtEGL3* 和 *AtTT8* 通过调控结构基因,参与了花青素的积累^[91]。bHLH 在花青素合成途径中可以发挥正向调控的作用,通过莲花(*Nelumbo nucifera*) *NnTT8* 基因异源过表达分析发现,*NnTT8* 正向调控花青素和原花青素(PA)的生物合成,与拟南芥 *AtTT8* 具有类似的功能^[92]。从矮牵牛中鉴定出 *AN1* 和 *JAF13*(bHLH1)转录因子可以直接激活 *dfrA* 基因的表达,促进色素在花瓣中积累^[93]。前人研究发现,bHLH 还可以负调控花青素的生物合成,蜡梅(*Chimonanthus praecox*) *Cp-bHLH1* 转录因子通过抑制类黄酮生物合成途径后期基因(*LBG*)的表达来抑制花青素的沉积^[94]。Zhao 等^[95]研究发现,*LcbHLH92* 通过激活 *JAZ* 基因来抑制 *TT8* 的表达,导致基因 *DFR* 和 *ANS* 的表达活性下降,起到显著降低花青素积累的作用。

3.3 WD40 转录因子

WD40 蛋白也称为 WD 重复蛋白(WD-repeat protein),由 4~16 个高度保守的 WD40 特征基序构成。每个保守的特征基序从 N 末端甘氨酸-组氨酸(G-H)对开始,到 C 末端天冬氨酸-色氨酸(W-D)对结束,也被称为 Trp-Asp 基序^[96-97],每个基序由 4 个反式折叠组成^[98]。WD40 蛋白在植物体中最重要的功能之一是参与花青素生物合成的调控^[99-100],通过 WD40 结构域与其他转录因子结合协同调控花瓣中色素沉积,所以 WD40 转录因子的发现进一步完善了花青素生物合成机制理论。

前人研究发现矮牵牛 *PhAN11* 基因编码的 WD40 蛋白可以激活 *PhAN2* 的转录,促进花青素的合成^[101],而拟南芥 *TTG1* 转录因子与矮牵牛 *AN11*

高度同源,可以诱导 *DFR* 基因的表达,调控花青素的积累及叶表皮毛的形成,*TTG1* 基因的缺失会严重影响这些发育过程^[102-103]。Saito 等^[63]在紫苏(*Perilla frutescens*)叶色研究中鉴定到了调控花青素合成的 PFWD 蛋白,在拟南芥中过表达 *PFWD* 基因能够使花青素的合成增强,An 等^[104]从苹果(*Malus pumila*)中克隆到 WD40 基因 *MdTTG1*,并通过在拟南芥中异源表达,鉴定出 *MdTTG1* 为调控花青素积累的关键基因。小苍兰(*Freesia hybrida*) WD40 基因 *FhTTG1* 与花青素和原花青素的合成同步表达,*FhTTG1* 可能与转录因子 *FhbHLH* 相互作用,正向调控与花青素、原花青素合成及毛状体形成相关的基因,进而影响相关发育过程^[105]。

3.4 转录因子 MBW 复合物的调控作用

花色调控因子 R2R3-MYB、bHLH 与 WD40 相互作用组成复合体(MBW)^[35,106],可以激活参与花青素、原花青素合成相关结构基因的活性。MBW 复合体通过与结构基因的启动子特异性结合,实现对花青素生物合成途径的调控作用^[107-108],但是这些结构基因的功能在不同物种之间存在差异^[106]。在拟南芥中茉莉酸(JAs)诱导 JAZ 蛋白降解,使 JAZ 蛋白对 bHLH 和 MYB 的抑制作用解除,MBW 复合体的调控活性恢复,促进了花青素的合成和毛状体的产生^[109]。月季中 *RcMYB* 与 *RcbHLH* (*RcbHLH42* 和 *RcEGL1*)、*RcTTG1* 结合形成两种 MBW 复合体,通过瞬时表达发现这两种复合体以功能冗余的方式正向调控花青素的合成^[110]。Gu 等^[111]发现斑点牡丹 *PsMYB12* 与 bHLH 和 WD40 蛋白相互作用形成复合体,可以激活色斑中 *PsCHS* 基因特异性表达。苜蓿(*Medicago truncatula*)花中 *MtTT8*、*MtWD40-1* 与 MYB 转录因子 *MtPAR* 相互作用,激活花青素还原酶(*ANR*)和花青素合成酶的活性,调节花青素的生物合成^[112]。紫叶茶树(*Camellia sinensis*)中 R2R3-MYB 转录因子 *CsAN1* 特异性激活 *CsGL3* (bHLH),结合 WD-repeat 蛋白 *CsTTG1*,形成 MYB-bHLH-WDR (MBW) 复合物,促进花青素合成途径后期结构基因(*LBG*)表达,调控花青素积累^[113]。

4 组学研究在观赏植物中的应用

4.1 转录组学在观赏植物研究中的应用

转录组学是生物体在一定发育阶段或特定功能

状态下,通过对基因的结构和功能进行研究,揭示该生物生长发育特征分子机制的一种分析技术。转录组学从特定组织或者特定细胞的整体层面对基因的表达情况进行分析,从根本上对转录出来的 mRNA 集合进行研究。转录组测序(RNA-seq)技术是通过对 cDNA 序列进行测序得到大量 read 片段,再经过特殊的运算方法,最终获得基因片段表达水平^[114]的一种高通量测序技术。基于下一代测序(NGS)的 RNA-seq 技术已被广泛应用于鉴定园艺作物的关键调控基因^[115-117]。李婧^[118]利用 Illumina Hi-Seq 技术对三色堇(*Viola × Wittrockiana* Gams.)花瓣进行高通量测序,与公共数据库进行比对,挖掘出了参与花青素和类胡萝卜素生物合成的关键基因,并在不同花色品种中对基因功能进行了表达分析,揭示了三色堇花斑形成的分子机理。Qu 等^[119]对不同花期的绿绒蒿(*Meconopsis*)开展转录组测序和生物信息学分析,鉴定出 5 个调控花色变化的重要差异基因。Shi 等^[120]基于 Illumina Hi-Seq 技术对黄色和紫红色牡丹花瓣进行了大规模转录组分析,共筛选出 4 个在紫红色花色形成过程中发挥关键作用的结构基因和转录因子,为今后更好地解析牡丹花着色机理提供了关键的基因靶点。

基于 Illumina Solexa 平台的高通量测序技术作为挖掘花色相关基因和解析花瓣呈色机制的高效技术手段,在观赏植物中得到了广泛应用,如石蒜花(*Lycoris radiata*)^[121]、甘菊(*Chrysanthemum lavandulifolium*)^[122]、马蹄莲(*Zantedeschia aethiopica*)^[123]、木槿(*Hibiscus syriacus*)^[124]等,这些分析结果为植物色素沉着的分子机制研究提供了大量有价值的基因资源,为次生代谢物合成相关调控基因的挖掘提供了重要的途径。

4.2 代谢组学在观赏植物中的应用

代谢组学是对某一生物体、组织或细胞中的所有低相对分子量(通常是指相对分子量<1 000)代谢产物进行定量和定性分析的新兴技术。通过分析植物在正常生长发育条件下与特殊环境或者处理下生成的差异次生代谢物,来揭示其生命活动的变化规律^[125]。根据植物中代谢物的差异变化也可以反映出植物生长环境的动态变化。利用样本图谱的检测、识别技术,对代谢过程中次生代谢物的富集、消耗及分布进行研究、验证,找出可能与之相关的生物标志物^[126],可以对生物体的生理状态作出

一定的判断。

代谢组学在园艺植物花色研究方面已被广泛应用,通过分析差异代谢物的沉积规律,揭示花青素类物质的生物合成途径和花色呈色机制^[127]。Park 等^[128]利用代谢组学分析了白色、紫色和红色杜鹃(*Rhododendron schlippenbachii*)表型的变化和代谢物的积累,鉴定出 40 种差异次生代谢物,发现红色花的花青素积累量最高,主要成分是矢车菊素。Shen 等^[129]利用代谢组学对紫叶茶新品种 ZX 进行了研究,发现紫叶茶中与花青素合成相关的代谢产物含量保持了较高水平,而在绿叶茶中与叶绿素、类胡萝卜素合成有关的代谢产物含量较高,这些发现有助于解析紫叶茶叶色的形成机制。Su 等^[130]采用代谢组学对玫瑰品种 Chen Xi 在不同光照条件下花瓣中类黄酮代谢物进行了研究,发现不同处理间有 56 种类黄酮化合物存在差异,主要富集在异黄酮、类黄酮、黄酮和黄酮醇、苯丙素以及花青素的生物合成途径中,分析认为花青素是引起玫瑰花在光照下转变为红色的主要原因。陈勇等^[131]通过代谢组学分析发现,洋紫荆花(*Bauhinia variegata* L.)不同颜色花瓣积累的花青素种类存在差异,紫红色花瓣积累的主要是锦葵色素衍生物和飞燕草色素衍生物,白色花则以天竺葵色素衍生物为主。此外,通过代谢组学研究与植物色泽相关的次生代谢物还有较多报道,如 Ai 等^[132]对建兰(*Cymbidium ensifolium*)的研究、Zhao 等^[133]对睡莲(*Nymphaea*)的研究、Sawada 等^[134]对菊花的研究以及桑贤东等^[135]对大红花(*Hibiscus rosa-sinensis*)的研究。

4.3 蛋白质组学在观赏植物中的应用

蛋白质组学是从生物体或者细胞水平研究某一生理过程的全部蛋白质,分析这一过程中蛋白质的差异表达、修饰作用及蛋白质之间的互作等规律,从而揭示某一生命活动的生理或者分子机制的一种分析技术^[136]。目前蛋白质组学主要有双向分离凝胶电泳技术、质谱分析技术、同位素标记相对和绝对定量技术、蛋白质芯片技术、免疫共沉淀技术等,其中同位素标记技术(iTRAQ)和串联质谱标记技术(TMT)操作效率和灵敏度较高,广泛用于蛋白质分析研究^[137]。观赏植物着色相关基因在植株生长发育不同时间、不同部位表达情况并不完全相同,所以有必要进行多时期、多部位、多水平的蛋白质组学研究,建立色泽形成的功能蛋白质库和基因库,为观赏

植物种质资源创制、分子辅助育种提供理论基础。

蛋白质是各种生命活动的承担者和执行者,通过对蛋白质类物质进行分析,从生物化学角度探究观赏植物表型特征^[138],有助于揭示其花色形成机理。吴欣欣等^[139]采用双向电泳和蛋白质质谱鉴定技术,对红色和白色跳枝梅(*Prunus mume* Fuban Tiaozhi)花蕾的差异表达蛋白质进行分析,共鉴定到表达丰度差异达到 2 倍以上的蛋白质 21 个,对其中 12 个关键蛋白质编码基因在分子水平进行分析,发现与信号转导相关的生长素结合蛋白质、与茉莉酸甲酯合成相关的丙二烯氧化物环化酶可能是导致梅花颜色差异的关键因子。为了探究红掌(*Anthurium andraeanum*)佛焰苞颜色变化的机理,高乐^[140]以红色野生型及玫瑰红、白色突变体为研究对象进行蛋白质组学研究,鉴定到 21 个参与类黄酮合成、葡萄糖代谢、抗逆性、基因调节和信号转导等生命活动过程的功能蛋白,推测这些蛋白质的差异表达是花朵呈现不同颜色的主要原因。李林宝^[141]在莲大洒锦色斑区蛋白质组学研究中鉴定到参与花青素生物合成的差异表达蛋白质(酶)9 个,其中有 6 个酶在着色区域呈上调趋势,特别是 ANS 和 CHI 对花青素在色斑区的积累影响显著^[141]。通过蛋白质组学对观赏植物花色呈色机理进行解析,为关键基因挖掘研究提供了理论基础,对花色分子改良具有重要意义。

4.4 多组学联合在观赏植物中的应用

采用转录组学、代谢组学、蛋白质组学等多组学进行联合分析,探究不同基因、次生代谢物、蛋白质的差异表达及互作关系,已成为解析观赏植物花色素苷合成、花色调控机制的方向和热点。Fan 等^[142]通过代谢组学技术和高通量测序技术对草原龙胆双色花发育过程中与花青素生物合成途径的差异表达代谢物与差异表达基因进行联合分析,挖掘了调控网络中关键基因与代谢物的关联性,为揭示草原龙胆双色花形成中花青素积累的分子机制奠定了基础。

为了探究鹿角杜鹃花色变异的分子机制,Xiao 等^[143]以浅粉色、紫色花为研究对象进行代谢组学与转录组学联合分析,挖掘了与呈色相关的代谢产物、关键基因和转录因子,发现随着 *RIF3GT1* 表达量的增加和 *RILAR*、*RIANR* 表达量的降低,锦葵色素-3-O-葡萄糖苷和芍药色素-3-O-葡萄糖苷的表达量增

加,使鹿角杜鹃花呈现紫色,研究还发现转录因子 R1MYB4、结构基因 *R1LAR* 与代谢物苹果苷-3-*O*-葡萄糖苷和豌豆苷-3-*O*-葡萄糖苷之间存在调控关系。吴艳梅^[144]通过转录组学和蛋白质组学的联合分析解析华丽龙胆 (*Gentiana sino-ornata*) 蓝色花呈色机制,筛选出 1 247 个差异表达基因和 825 个差异表达蛋白质,鉴定出与花青素生物合成相关的关键基因 *F3' 5' H*、*5GT*、*5AT* 及聚类基因群 (包括 *3GT*、*UF3GT*、*DFR*、*ANS*、*bHLH*),推测这些基因调控飞燕草素苷的生物合成、修饰、转运等过程,可能是华丽龙胆花冠呈蓝色的关键基因。Deng 等^[145]综合运用代谢组学和蛋白质组学技术对莲花花瓣红白双色模式进行分析,发现花青素 3-*O*-葡萄糖基转移酶 (*UGT*) 积累的减少导致花瓣白色部分花青素糖基化失败,使花瓣不同部位花青素苷差异沉积,形成红白双色花。杨娟^[146]以紫色和白色燕子花 (*Iris laevigata*) 为试验材料,通过转录组学、代谢组学和蛋白质组学联合分析发现,紫色燕子花中花青素种类和含量显著高于白色花,特别是飞燕草色素大量积累,而转录因子 *II*MYB4 和 *II*MYB5 竞争与 *II*bHLH3 结合,促进 *II*ANR 表达量增加,使白色花中花青素的生物合成通路受到阻碍进而抑制花青素的合成。

5 展望

观赏植物花青素生物合成受结构基因和调控因子的共同作用,随着组学的应用,科研人员对观赏植物呈色机制的研究将更加深入。挖掘与花瓣着色相关的关键基因并对其功能进行验证,采用基因改良技术使花色研究朝满足市场需求的方向发展,将为观赏植物花色改良和分子辅助育种提供理论参考。

随着高通量测序技术、代谢组学、蛋白质组学的发展和完善,不同组学联合解析在观赏植物花色形成和基因网络调控方面具有广阔的应用空间。花色素的积累是一个复杂的代谢过程,涉及到的差异基因、代谢物、蛋白质相对较多,目前相关代谢调控网络研究还不够完善,因此通过多组学联合从多维度解析花色素积累的调控机制尤为重要。结合表观遗传特征,从不同角度深入挖掘影响差异表型形成的基因资源,为花色调控提供理论基础。

观赏植物的花瓣除了具有全色以外,还具有双色、斑状、雾状、茶色等特殊表型,例如双色大丽花、斑状百合、茶色草原龙胆等具有较高的商业价值,广

受市场欢迎。观赏植物这些特异性状相对稳定,但是其分子遗传规律很少被揭示,采用较先进的技术分析手段,揭示背后控制这些性状的主效基因和转录因子,可以为观赏植物种质创新和花色改良育种提供理论基础。

环境因素影响观赏植物花青素苷的稳定性,基因与环境的互作可以调控花色的表型,环境因子通过影响花青素合成关键基因的表达来调控花色素的积累。挖掘不同环境因子的信号转导方式,分析环境对关键基因表达的影响及其与呈色物质积累的关联性,对观赏植物栽培过程中环境因子的调控和观赏植物观赏价值的提高具有重要意义。

参考文献:

- [1] YE S H, HUA S J, MA T T, et al. Genetic and multi-omics analyses reveal BnaA07.PAP2In-184-317 as the key gene conferring anthocyanin-based color in *Brassica napus* flowers [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73 (19): 6630-6645.
- [2] DAVIES K M, SCHWINN K E. Molecular biology and biotechnology of flower pigments [M]. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010.
- [3] SAIGO T, WANG T, WATANABE M, et al. Diversity of anthocyanin and proanthocyanin biosynthesis in land plants [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2020, 55: 93-99.
- [4] 乔廷廷,郭 玲. 花青素来源、结构特性和生理功能的研究进展 [J]. *中成药*, 2019, 41 (2): 388-392.
- [5] 刘国元,方 威,余春梅,等. 花青素调控植物花色的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2021, 49 (3): 1-4, 9.
- [6] 刘志祥,洪亚辉,莫爱华,等. 观赏植物花色分子遗传学及基因工程研究进展 [J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2002, 28 (6): 531-534.
- [7] 刘 红,魏晓羽,马 辉,等. 几种兰属地生种花瓣花色素组成分析 [J]. *江苏农业学报*, 2022, 38 (6): 1657-1677.
- [8] 高 飞,柯 焱,金 韬,等. 光照对植物合成花色素苷的影响研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2014, 30 (34): 6-10.
- [9] LIU X F, TENG R P, XIANG L L, et al. Sucrose-delaying flower color fading associated with delaying anthocyanin accumulation decrease in cut *Chrysanthemum* [J]. *PeerJ*, 2023, 11: 16520.
- [10] NURAINI L, ANDO Y, KAWAI K, et al. Anthocyanin regulatory and structural genes associated with violet flower color of *Matthiola incana* [J]. *Planta*, 2020, 251 (3): 61.
- [11] SUN Y, HU P L, JIANG Y N, et al. Integrated metabolome and transcriptome analysis of petal anthocyanin accumulation mechanism in *Gloriosa superba* 'Rothschildiana' during different flower development stages [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24 (20): 15034.
- [12] LIU Y F, ZHANG J H, YANG X H, et al. Diversity in flower col-

- orations of *Ranunculus asiaticus* L. revealed by anthocyanin biosynthesis pathway in view of gene composition, gene expression patterns, and color phenotype[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2019, 26(14):13785-13794.
- [13] WANG Z, LI X, CHEN M M, et al. Molecular and metabolic insights into anthocyanin biosynthesis for spot formation on *Lilium leichlinii* var. *maximowiczii* flower petals[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(3):1844.
- [14] MORITA Y, SAITO R, BAN Y, et al. Tandemly arranged *Chalcone synthase* genes contribute to the spatially regulated expression of siRNA and the natural bicolor floral phenotype in *Petunia hybrida*[J]. Plant Journal, 2012, 70(5):739-749.
- [15] CAMPANELLA J J, SMALLEY J V, DEMPSEY M E. A phylogenetic examination of the primary anthocyanin production pathway of the plantae[J]. Botanical Studies, 2014, 55(1):10.
- [16] YANG Y, CUI B H, TAN Z W, et al. RNA sequencing and anthocyanin synthesis-related genes expression analyses in white-fruited *Vaccinium uliginosum*[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1):930.
- [17] TANAKA Y, BRUGLIERA F. Flower colour and cytochromes P450[C]. London: The Royal Society, 2013.
- [18] 周惠, 文锦芬, 邓明华, 等. 植物花青素生物合成相关基因研究进展[J]. 辣椒杂志, 2011, 9(4):1-7.
- [19] GROTEWOLD E. The genetics and biochemistry of floral pigments[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57:761-780.
- [20] TANAKA Y, OHMIYA A. Seeing is believing; engineering anthocyanin and carotenoid biosynthetic pathways[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2008, 19(2):190-197.
- [21] MATTIOLI R, FRANCIOSO A, MOSCA L, et al. Anthocyanins: a comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases[J]. Molecules, 2020, 25(17):3809.
- [22] LEV-YADUN S, GOULD K S. Role of anthocyanins in plant defence[M]. New York: Springer, 2008.
- [23] ILK N, DING J, IHNATOWICZ A, et al. Natural variation for anthocyanin accumulation under high-light and low-temperature stress is attributable to the enhancer of Ag-4 2 (Hua2) locus in combination with production of anthocyanin pigment1 (pap1) and pap2[J]. New Phytologist, 2015, 206(1):422-435.
- [24] HENRY-KIRK R A, PLUNKETT B, HALL M, et al. Solar UV light regulates flavonoid metabolism in apple (*Malus × domestica*) [J]. Plant, Cell & Environment, 2018, 41(3):675-688.
- [25] KATAOKA I, BEPPU K. UV irradiance increases development of red skin color and anthocyanins in 'Hakuho' peach[J]. Hort Science, 2004, 39(6):1234-1237.
- [26] WINKEL-SHIRLEY B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology [J]. Plant Physiology, 2001, 126(2):485-493.
- [27] WEI Y Z, HU F C, HU G B, et al. Differential expression of anthocyanin biosynthetic genes in relation to anthocyanin accumulation in the pericarp of *Litchi chinensis* Sonn [J]. PLoS One, 2011, 6(4):19455.
- [28] WANG R, MAO C J, MING F. *PeMYB4L* interacts with *PeMYC4* to regulate anthocyanin biosynthesis in *Phalaenopsis* orchid [J]. Plant Science, 2022, 324:111423.
- [29] KOES R, VERWEIJ W, QUATTROCCHIO F. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways [J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(5):236-242.
- [30] CHOPRA S, HOSHINO A, BODDU J, et al. Flavonoid pigments as tools in molecular genetics[M]. New York: Springer, 2006.
- [31] 李琴琴, 董山榕, 罗建让, 等. 卵叶牡丹 *PqDFR* 和 *PqANS* 及启动子克隆与功能分析[J]. 园艺学报, 2024, 51(6):1256-1272.
- [32] BOSS P K, DAVIES C, ROBINSON S P. Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation [J]. Plant Physiology, 1996, 111(4):1059-1066.
- [33] FALCONE FERREYRA M L, RIUS S P, CASATI P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications [J]. Frontiers in Plant Science, 2012, 3:222.
- [34] MORITA Y, SAITOH M, HOSHINO A, et al. Isolation of cDNAs for *R2R3-MYB*, *bHLH* and *WDR* transcriptional regulators and identification of *c* and *ca* mutations conferring white flowers in the Japanese morning glory [J]. Plant & Cell Physiology, 2006, 47(4):457-470.
- [35] ALLAN A C, HELLENS R P, LAING W A. *MYB* transcription factors that colour our fruit[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13(3):99-102.
- [36] NUGROHO L H, VERBERNE M C, VERPOORTE R. Activities of enzymes involved in the phenylpropanoid pathway in constitutively salicylic acid-producing tobacco plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2002, 40(9):755-760.
- [37] CHON S U, BOO H O, HEO B G, et al. Anthocyanin content and the activities of polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in lettuce cultivars [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2012, 63(1):45-48.
- [38] 李林菊, 冯志熙, 李新艺, 等. 滇水金凤 *PAL* 基因的克隆与表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2023, 31(11):2272-2283.
- [39] WANG H Q, ARAKAWA O, MOTOMURA Y. Influence of maturity and bagging on the relationship between anthocyanin accumulation and phenylalanine ammonia-lyase (*PAL*) activity in 'Jonathan' apples [J]. Postharvest Biology and Technology, 2000, 19(2):123-128.
- [40] HE F, MU L, YAN G L, et al. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes [J]. Molecules, 2010, 15(12):9057-9091.
- [41] 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):0119054.
- [42] HUANG J, ZHAO X, ZHANG Y, et al. *Chalcone-synthase-encoding RdCHS1* is involved in flavonoid biosynthesis in *Rhododen-*

- dron delavayi*[J]. *Molecules*,2024,29(8):1822.
- [43] WANG Y, DOU Y, WANG R, et al. Molecular characterization and functional analysis of *Chalcone* synthase from *Syringa oblata* Lindl. in the flavonoid biosynthetic pathway[J]. *Gene*,2017,635:16-23.
- [44] NABAVI S M, DUNJA Š, TOMCZYK M, et al. Flavonoid biosynthetic pathways in plants; versatile targets for metabolic engineering [J]. *Biotechnology Advances*,2020,38:107316.
- [45] MORITA Y, TAKAGI K, FUKUCHI-MIZUTANI M, et al. A *Chalcone* isomerase-like protein enhances flavonoid production and flower pigmentation[J]. *Plant Journal*,2014,78(2):294-304.
- [46] RYAN K G, SWINNY E E, WINEFIELD C, et al. Flavonoids and UV photoprotection in *Arabidopsis* mutants[J]. *Journal of Biosciences*,2001,56(9/10):745-754.
- [47] DAS P K, SHIN D H, CHOI S B, et al. Cytokinins enhance sugar-induced anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Molecules and Cells*,2012,34(1):93-102.
- [48] MA L L, JIA W J, DUAN Q, et al. Heterologous expression of *Platycodon grandiflorus* *PgF3'5'H* modifies flower color pigmentation in tobacco[J]. *Genes*,2023,14(10):1920.
- [49] FINN R D, COGGILL P, EBERHARDT R Y, et al. The pfam protein families database: towards a more sustainable future [J]. *Nucleic Acids Research*,2016,44(1):279-285.
- [50] LIM S H, YOU M K, KIM D H, et al. RNAi-mediated suppression of dihydroflavonol 4-reductase in tobacco allows fine-tuning of flower color and flux through the flavonoid biosynthetic pathway [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*,2016,109:482-490.
- [51] NI J, RUAN R J, WANG L J, et al. Functional and correlation analyses of dihydroflavonol-4-reductase genes indicate their roles in regulating anthocyanin changes in *Ginkgo biloba* [J]. *Industrial Crops and Products*,2020,152:112546.
- [52] 韩科厅,赵 莉,唐香姣,等. 菊花花青素苷合成关键基因表达与花色表型的关系[J]. *园艺学报*,2012,39(3):516-524.
- [53] ZAN W X, WU Q K, DOU S H, et al. Analysis of flower color diversity revealed the co-regulation of cyanidin and peonidin in the red petals coloration of *Rosa rugosa* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*,2024,216:109126.
- [54] XIE D Y, JACKSON L A, COOPER J D, et al. Molecular and biochemical analysis of two cDNA clones encoding dihydroflavonol-4-reductase from *Medicago truncatula* [J]. *Plant Physiology*,2004,134(3):979-994.
- [55] WILMOUTH R C, TURNBULL J J, WELFORD R W D, et al. Structure and mechanism of anthocyanidin synthase from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Structure*,2002,10(1):93-103.
- [56] FORKMANN G, MARTENS S. Metabolic engineering and applications of flavonoids [J]. *Current Opinion in Biotechnology*,2001,12(2):155-160.
- [57] 平怀磊,郭 雪,余 潇,等. 滇牡丹 *PdANS* 的克隆、表达及与花青素含量的相关性 [J]. *生物技术通报*,2023,39(3):206-217.
- [58] AHARONI A, DE VOS C H, WEIN M, et al. The strawberry *FaMYB1* transcription factor suppresses anthocyanin and flavonol accumulation in transgenic tobacco [J]. *Plant Journal*,2001,28(3):319-332.
- [59] XU F, LI L L, ZHANG W W, et al. Isolation, characterization, and function analysis of a flavonol synthase gene from *Ginkgo biloba* [J]. *Molecular Biology Reports*,2012,39(3):2285-2296.
- [60] LUO P, NING G G, WANG Z, et al. Disequilibrium of *flavonol synthase* and *dihydroflavonol-4-reductase* expression associated tightly to white vs. red color flower formation in plants [J]. *Frontiers in Plant Science*,2016,6:1257.
- [61] HOLTON T A, BRUGLIERA F, TANAKA Y. Cloning and expression of flavonol synthase from *Petunia hybrida* [J]. *Plant Journal*,1993,4(6):1003-1010.
- [62] NIELSEN K, DEROLE S C, MARKHAM K R, et al. Antisense flavonol synthase alters copigmentation and flower color in *Lisianthus* [J]. *Molecular Breeding*,2002,9(4):217-229.
- [63] SAITO K, YAMAZAKI M. Biochemistry and molecular biology of the late-stage of biosynthesis of anthocyanin: lessons from *Perilla frutescens* as a model plant [J]. *New Phytologist*,2002,155(1):9-23.
- [64] 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.
- [65] MORITA Y, ISHIGURO K, TANAKA Y, et al. Spontaneous mutations of the UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase gene confers pale- and dull-colored flowers in the Japanese and common morning glories [J]. *Planta*,2015,242(3):575-587.
- [66] TERRIER N, TORREGROSA L, AGEORGES A, et al. Ectopic expression of *VvMybPA2* promotes proanthocyanidin biosynthesis in grapevine and suggests additional targets in the pathway [J]. *Plant Physiology*,2009,149(2):1028-1041.
- [67] LLOYD A, BROCKMAN A, AGUIRRE L, et al. Advances in the MYB-bHLH-WD repeat (MBW) pigment regulatory model: addition of a *WRKY* factor and co-option of an anthocyanin *MYB* for betalain regulation [J]. *Plant & Cell Physiology*,2017,58(9):1431-1441.
- [68] TO K Y, WANG C K. Molecular breeding of flower color [M]. London: Global Science Books,2006.
- [69] MA D W, PETER CONSTABEL C. *MYB* repressors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants [J]. *Trends in Plant Science*,2019,24(3):275-289.
- [70] BUER C S, IMIN N, DJORDJEVIC M A. Flavonoids; new roles for old molecules [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*,2010,52(1):98-111.
- [71] ROMERO I, FUERTES A, BENITO M J, et al. More than 80 *R2R3-MYB* regulatory genes in the genome of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Journal*,1998,14(3):273-284.
- [72] RABINOWICZ P D, BRAUN E L, WOLFE A D, et al. *Maize R2R3 Myb* genes: sequence analysis reveals amplification in the

- higher plants[J]. *Genetics*, 1999, 153(1):427-444.
- [73] CAO Y L, JIA H M, XING M Y, et al. Genome-wide analysis of *MYB* gene family in Chinese bayberry (*Morella rubra*) and identification of members regulating flavonoid biosynthesis[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12:691384.
- [74] RICARDO PÉREZ-DÍAZ J, PÉREZ-DÍAZ J, MADRID-ESPINOZA J, et al. New member of the R2R3-MYB transcription factors family in grapevine suppresses the anthocyanin accumulation in the flowers of transgenic tobacco[J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(1/2):63-76.
- [75] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, et al. *MYB* transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(10):573-581.
- [76] ZHANG Q, HAO R J, XU Z D, et al. Isolation and functional characterization of a *R2R3-MYB* regulator of *Prunus mume* anthocyanin biosynthetic pathway[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2017, 131(3):417-429.
- [77] LIU Q, LI S J, LI T J, et al. The characterization of *R2R3-MYB* genes in water lily *Nymphaea colorata* reveals the involvement of *NcMYB25* in regulating anthocyanin synthesis[J]. *Plants*, 2024, 13(21):2990.
- [78] ZHANG B, XU X J, HUANG R W, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutation reveals a role for *AN4* rather than *DPL* in regulating venation formation in the *Corolla* tube of *Petunia hybrida* [J]. *Horticulture Research*, 2021, 8(1):116.
- [79] ZHANG X P, XU Z D, YU X Y, et al. Identification of two novel *R2R3-MYB* transcription factors, *PsMYB114L* and *PsMYB12L*, related to anthocyanin biosynthesis in *Paeonia suffruticosa* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(5):1055.
- [80] 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.
- [81] HONG Y, LI M L, DAI S L. Ectopic expression of multiple *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum* × *morifolium*) *R2R3-MYB* transcription factor genes regulates anthocyanin accumulation in tobacco [J]. *Genes*, 2019, 10(10):777.
- [82] YOSHIDA K, MA D W, PETER CONSTABEL C. The MYB182 protein down-regulates proanthocyanidin and anthocyanin biosynthesis in poplar by repressing both structural and regulatory flavonoid genes[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(3):693-710.
- [83] ANWAR M, WANG G Q, WU J C, et al. Ectopic overexpression of a novel *R2R3-MYB*, *NtMYB2* from Chinese *Narcissus* represses anthocyanin biosynthesis in tobacco [J]. *Molecules*, 2018, 23(4):781.
- [84] ALBERT N W, DAVIES K M, LEWIS D H, et al. A conserved network of transcriptional activators and repressors regulates anthocyanin pigmentation in eudicots[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(3):962-980.
- [85] HU X M, LIANG Z H, SUN T X, et al. The *R2R3-MYB* transcriptional repressor *TgMYB4* negatively regulates anthocyanin biosynthesis in tulips (*Tulipa gesneriana* L.) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(1):563.
- [86] FELLER A, YUAN L, GROTEWOLD E. The BIF domain in plant bHLH proteins is an ACT-like domain[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(8):1800-1802.
- [87] FELLER A, MACHEMER K, BRAUN E L, et al. Evolutionary and comparative analysis of *MYB* and *bHLH* plant transcription factors[J]. *Plant Journal*, 2011, 66(1):94-116.
- [88] 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.
- [89] LI C H, QIU J, DING L, et al. Anthocyanin biosynthesis regulation of *DhMYB2* and *DhbHLH1* in *Dendrobium* hybrids petals [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 112:335-345.
- [90] HEIM M A, JAKOBY M, WERBER M, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor family in plants; a genome-wide study of protein structure and functional diversity[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2003, 20(5):735-747.
- [91] NESI N, DEBEAUJON I, JOND C, et al. The *TT8* gene encodes a basic helix-loop-helix domain protein required for expression of *DFR* and *BAN* genes in *Arabidopsis* siliques [J]. *The Plant Cell*, 2000, 12(10):1863-1878.
- [92] DENG J, LI J J, SU M Y, et al. A *bHLH* gene *NnTT8* of *Nelumbo nucifera* regulates anthocyanin biosynthesis [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 158:518-523.
- [93] 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]. *The Plant Cell*, 2000, 12(9):1619-1632.
- [94] ZHAO R, SONG X X, YANG N, et al. Expression of the subgroup IIIb *bHLH* transcription factor *CpbHLH1* from *Chimonanthus praecox* (L.) in transgenic model plants inhibits anthocyanin accumulation [J]. *Plant Cell Reports*, 2020, 39(7):891-907.
- [95] ZHAO P C, LI X X, JIA J T, et al. *BHLH92* from sheepgrass acts as a negative regulator of anthocyanin/proanthocyanidin accumulation and influences seed dormancy [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(1):269-284.
- [96] NEER E J, SCHMIDT C J, NAMBUDRIPAD R, et al. The ancient regulatory-protein family of WD-repeat proteins [J]. *Nature*, 1994, 371(6495):297-300.
- [97] SMITH T F, GAITATZES C, SAXENA K, et al. The WD repeat: a common architecture for diverse functions [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1999, 24(5):181-185.
- [98] MISHRA A K, PURANIK S, PRASAD M. Structure and regulatory networks of WD40 protein in plants [J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 21(1):32-39.
- [99] CAREY C C, STRAHLE J T, SELINGER D A, et al. 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*[J]. The Plant Cell,2004,16(2):450-464.
- [100] YAO P F, ZHAO H X, LUO X P, et al. *Fagopyrum tataricum* *Ft-WD40* functions as a positive regulator of anthocyanin biosynthesis in transgenic tobacco [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2017,36(3):755-765.
- [101] DE VETTEN N, QUATTROCCHIO F, MOL J, et al. The *an11* locus controlling flower pigmentation in *Petunia* encodes a novel WD-repeat protein conserved in yeast, plants, and animals [J]. Genes & Development, 1997,11(11):1422-1434.
- [102] WALKER A R, DAVISON P A, BOLOGNESI-WINFIELD A C, et al. The *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein [J]. The Plant Cell, 1999,11(7):1337-1350.
- [103] PAYNE C T, ZHANG F, LLOYD A M. *GL3* encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with *GL1* and *TTG1* [J]. Genetics, 2000,156(3):1349-1362.
- [104] AN X H, TIAN Y, CHEN K Q, et al. The apple WD40 protein MdTTG1 interacts with bHLH but not MYB proteins to regulate anthocyanin accumulation [J]. Journal of Plant Physiology, 2012,169(7):710-717.
- [105] SHAN X T, LI Y Q, YANG S, et al. A functional homologue of *Arabidopsis* *TTG1* from *Freesia* interacts with bHLH proteins to regulate anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in both *Freesia* hybrida and *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019,141:60-72.
- [106] DAVIES K M, SCHWINN K E. Transcriptional regulation of secondary metabolism [J]. Functional Plant Biology, 2003,30(9):913-925.
- [107] DARE A P, SCHAFFER R J, KUI L W, et al. Identification of a Cis-regulatory element by transient analysis of co-ordinately regulated genes [J]. Plant Methods, 2008,4:17.
- [108] HARTMANN U, SAGASSER M, MEHRTENS F, et al. Differential combinatorial interactions of Cis-acting elements recognized by *R2R3-MYB BZIP* and *BHLH* factors control light-responsive and tissue-specific activation of phenylpropanoid biosynthesis genes [J]. Plant Molecular Biology, 2005,57(2):155-171.
- [109] QI T C, SONG S S, REN Q C, et al. The Jasmonate-ZIM-domain proteins interact with the WD-Repeat/bHLH/MYB complexes to regulate Jasmonate-mediated anthocyanin accumulation and trichome initiation in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Cell, 2011,23(5):1795-1814.
- [110] 张 忍. *MYB* 转录因子 *RcMYB1* 调控月季花青素生物合成 [D]. 上海:上海师范大学,2023.
- [111] GU Z Y, ZHU J, HAO Q, et al. A novel *R2R3-MYB* transcription factor contributes to petal blotch formation by regulating organ-specific expression of *PsCHS* in tree peony (*Paeonia suffruticosa*) [J]. Plant & Cell Physiology, 2019,60(3):599-611.
- [112] 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.
- [113] SUN B M, ZHU Z S, CAO P R, et al. Purple foliage coloration in tea (*Camellia sinensis* L.) arises from activation of the *R2R3-MYB* transcription factor *CsANI* [J]. Scientific Reports, 2016,6:32534.
- [114] ANSORGE W J. Next-generation DNA sequencing techniques [J]. New Biotechnology, 2009,25(4):195-203.
- [115] NAKATSUKA T, SUZUKI T, HARADA K, et al. Floral organ- and temperature-dependent regulation of anthocyanin biosynthesis in *Cymbidium* hybrid flowers [J]. Plant Science, 2019,287:110173.
- [116] SASAKI K, MITSUDA N, NASHIMA K, et al. Generation of expressed sequence tags for discovery of genes responsible for floral traits of *Chrysanthemum morifolium* by next-generation sequencing technology [J]. BMC Genomics, 2017,18(1):683.
- [117] ZHAO D Q, JIANG Y, NING C L, et al. Transcriptome sequencing of a chimaera reveals coordinated expression of anthocyanin biosynthetic genes mediating yellow formation in herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) [J]. BMC Genomics, 2014,15(1):689.
- [118] 李 婧. 三色堇 (*Viola x Wittrockiana* Gams.) 转录组测序及花色相关基因的发掘与表达验证 [D]. 海口:海南大学,2016.
- [119] QU Y, OU Z, YANG F S, et al. The study of transcriptome sequencing for flower coloration in different anthesis stages of alpine ornamental herb (*Meconopsis* 'Lingholm') [J]. Gene, 2019,689:220-226.
- [120] SHI Q Q, ZHOU L, WANG Y, et al. Transcriptomic analysis of *Paeonia delavayi* wild population flowers to identify differentially expressed genes involved in purple-red and yellow petal pigmentation [J]. PLoS One, 2015,10(8):0135038.
- [121] WANG N, SHU X C, ZHANG F J, et al. Comparative transcriptome analysis identifies key regulatory genes involved in anthocyanin metabolism during flower development in *Lycoris radiata* [J]. Frontiers in Plant Science, 2021,12:761862.
- [122] WANG Y, HUANG H, MA Y P, et al. Construction and de novo characterization of a transcriptome of *Chrysanthemum lavandulifolium*; analysis of gene expression patterns in floral bud emergence [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2014,116(3):297-309.
- [123] DE SOUZA CÂNDIDO E, DA ROCHA FERNANDES G, DE ALENCAR S A, et al. Shedding some light over the floral metabolism by arum lily (*Zantedeschia aethiopica*) spathe *de novo* transcriptome assembly [J]. PLoS One, 2014,9(3):90487.
- [124] 陈家龙,侯蓉苗,朱建军,等. 木槿两个花色品种的花瓣转录组测序分析 [J]. 分子植物育种, 2022,20(8):2507-2516.
- [125] FIEHN O. Metabolomics: the link between genotypes and phenotypes [J]. Plant Molecular Biology, 2002,48(1/2):155-171.
- [126] POTT D M, DURÁN-SORIA S, OSORIO S, et al. Combining metabolomic and transcriptomic approaches to assess and improve crop quality traits [J]. CABI Agriculture and Bioscience, 2021,2:

- 1.
- [127] 武美卿, 廖易, 陆顺教, 等. 基于广泛靶向代谢组学技术的不同花色秋石斛中花青素差异分析[J]. 热带作物学报, 2023, 44(11): 2167-2178.
- [128] PARK C H, YEO H J, KIM N S, et al. Metabolomic profiling of the white, violet, and red flowers of *Rhododendron schlippenbachii* maxim[J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 827.
- [129] SHEN J Z, ZOU Z W, ZHANG X Z, et al. Metabolic analyses reveal different mechanisms of leaf color change in two purple-leaf tea plant (*Camellia sinensis* L.) cultivars [J]. *Horticulture Research*, 2018, 5: 7.
- [130] SU M Y, DAMARIS R N, HU Z R, et al. Metabolomic analysis on the petal of 'Chen Xi' rose with light-induced color changes [J]. *Plants*, 2021, 10(10): 2065.
- [131] 陈勇, 李嘉杰, 郑丹菁, 等. 不同花色洋紫荆花瓣花青素和类黄酮物质组成和含量的变化[J]. 植物科学学报, 2024, 42(1): 96-103.
- [132] AI Y, ZHENG Q D, WANG M J, et al. Molecular mechanism of different flower color formation of *Cymbidium ensifolium* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2023, 113(4/5): 193-204.
- [133] ZHAO Y, ZHOU W J, CHEN Y, et al. Metabolite analysis in *Nymphaea* 'Blue Bird' petals reveal the roles of flavonoids in color formation, stress amelioration, and bee orientation [J]. *Plant Science*, 2021, 312: 111025.
- [134] SAWADA Y, SATO M, OKAMOTO M, et al. Metabolome-based discrimination of *Chrysanthemum* cultivars for the efficient generation of flower color variations in mutation breeding [J]. *Metabolomics*, 2019, 15(9): 118.
- [135] 桑贤东, 杨晓慧, 徐斌, 等. 基于靶向代谢组学分析不同花色大红花花青素的差异[J]. 广东农业科学, 2024, 51(8): 61-70.
- [136] 曹尚银, 张秋明, 朱志勇, 等. 苹果花芽孕育蛋白质组学初步分析[J]. 中国农业科学, 2007, 40(10): 2281-2288.
- [137] 李倩, 毛少利, 莫娇, 等. 蛋白质组学在植物中的研究[J]. 广西林业科学, 2017, 46(4): 400-402.
- [138] HUMPHERY-SMITH I, CORDWELL S J, BLACKSTOCK W P. Proteome research: complementarity and limitations with respect to the RNA and DNA worlds [J]. *Electrophoresis*, 1997, 18(8): 1217-1242.
- [139] 吴欣欣, 倪晓鹏, 周泳, 等. 基于蛋白质组学分析跳枝梅花色差异[J]. 北京林业大学学报, 2015, 37(增刊1): 74-81.
- [140] 高乐. 红掌花色变异相关蛋白质组及基因差异表达的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2019.
- [141] 李林宝. 通过转录组和蛋白组揭示莲'大洒锦'着色的分子机理[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
- [142] FAN Y, SUN L, SONG S L, et al. Integrated metabolome and transcriptome analysis of anthocyanin accumulation during the color formation of bicolor flowers in *Eustoma grandiflorum* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 314: 111952.
- [143] XIAO P, ZHANG H, LIAO Q L, et al. Insight into the molecular mechanism of flower color regulation in *Rhododendron latoucheae* franch; a multi-omics approach [J]. *Plants*, 2023, 12(16): 2897.
- [144] 吴艳梅. 基于转录组和蛋白组学的华丽龙胆蓝色花呈色机理研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2020.
- [145] DENG J, SU M Y, ZHANG X Y, et al. Proteomic and metabolomic analyses showing the differentially accumulated *NnUFGT2* is involved in the petal red-white bicolor pigmentation in *Lotus (Nelumbo nucifera)* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 198: 107675.
- [146] 杨娟. 基于多组学分析的燕子花花色变异分子机理[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2023.

(责任编辑: 黄克玲)