

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2012)03-0177-04

综 述

# 彩色马铃薯花色苷生物合成相关基因的研究进展

张新永, 郭华春\*, 赵昶灵

(云南农业大学薯类作物研究所, 云南 昆明 650201)

**摘 要:** 关键酶基因表达量决定了花色苷含量的高低, 综述国内外对彩色马铃薯花色苷生物合成途径以及相关基因的研究现状, 多个相关酶基因已经通过二倍体或四倍体马铃薯完成了 cDNA 的克隆, 研究发现部分酶基因的启动子容易受到 UVB 辐射、低温等外界环境条件的诱导。对以后的研究工作提出了建议, 希望能够为马铃薯花色苷的开发利用和生物合成相关基因的克隆、表达分析以及马铃薯分子育种提供参考依据。

**关键词:** 彩色马铃薯; 花色苷; 生物合成; 相关基因

## Anthocyanin Biosynthetic Genes in Colorful Potato

ZHANG Xinyong, GUO Huachun\*, ZHAO Changling

(Root and Tuber Crops Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

**Abstract:** Content of anthocyanin is depended upon the expression quantity of the critical genes. This paper reviewed the research achievements on the way of anthocyanin biosynthesis and the relative genes. cDNA of some genes are already cloned in diploid potato and Tuberousum potato. Promoters of some genes are liable to be induced by UVB and low temperature. This paper offers some advice on the research work in the future and hope it can offer some references for the research work upon the cDNA cloning, expression analysis and molecular breeding of colorful potato.

**Key Words:** colorful potato: anthocyanin: biosynthesis: relative genes

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是仅次于小麦、水稻和玉米的世界第四大粮食作物<sup>[1-2]</sup>, 明朝中后期传入我国, 复杂气候和生态条件使马铃薯分化出诸多品系, 出现相当数量的彩色马铃薯, 使我国的马铃薯种质资源库更加丰富<sup>[3-5]</sup>。彩色马铃薯块茎的颜色主要是由于其周皮和皮层存在花色苷的结果, 花色苷是植物次生代谢过程中产生的黄酮类物质<sup>[6-7]</sup>, 对于植物自身而言, 花色苷类物质能够显著提高其抗 UVB 辐射、抗寒、抗旱、抗氧化等方面的能力<sup>[8-9]</sup>; 对人类而言, 花色苷具有抗氧化活性、抗衰老、防止血管硬化的功能, 还是一种潜在的抗癌化合物, 可作为食品、药品和化妆品的天然色素<sup>[10-12]</sup>, 因此, 利用传统杂交技术和

分子育种技术培育彩色马铃薯新品种的研究逐渐受到重视<sup>[13-17]</sup>。

### 1 马铃薯块茎花色苷生物合成途径的研究现状

花色苷由“一般苯丙烷类途径”合成<sup>[18-20]</sup>(图1), 合成过程需要数种酶基因的参与才能够完成, 经过研究已经探明的有苯丙氨酸解氨酶基因(*PAL*)、类黄酮-3'-羟化酶基因(*F3'H*)和类黄酮-3', 5'-羟化酶基因(*F3'5'H*)、花色素合成酶基因(*ANS*)、查耳酮合酶基因(*CHS*)、黄烷酮 3-羟化酶基因(*F3H*)、二氢黄酮醇-4-还原酶基因(*DFR*)和 UDP-葡萄糖: 类黄酮 3-O-糖基转移酶基因(*3GT*)等多种酶基因<sup>[21-25]</sup>。

收稿日期: 2012-05-21

基金项目: 农业部行业科技专项(NYHYZX07-006); 云南省科技厅基金项目(2006C0030Q)。

作者简介: 张新永(1974-), 男, 博士, 讲师, 主要从事马铃薯栽培生理研究。

\*通信作者(Corresponding author): 郭华春, 博士, 教授, 主要从事薯类作物遗传育种学的教学与研究。

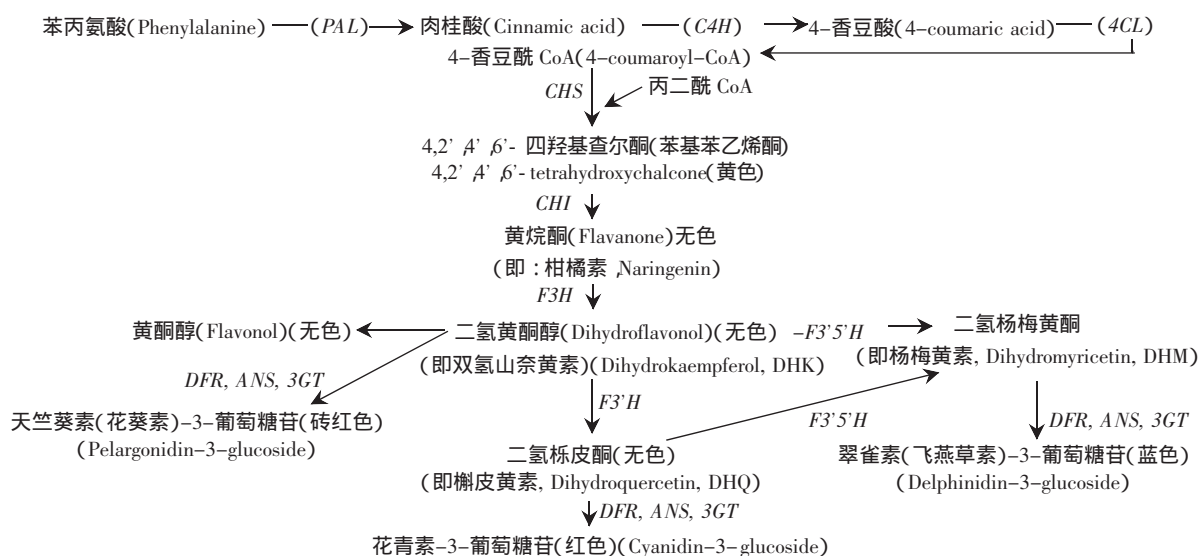


图1 花色苷生物合成途径

**Figure 1** The way of anthocyanin biosynthesis

绝大部分彩色马铃薯块茎的皮色和肉色是红色或者紫色。Howard 等<sup>[26]</sup>发现马铃薯块茎的粉红和紫色分别来自天竺葵素和矮牵牛素的糖苷衍生物。20 世纪 90 年代末, 多名研究人员的生物化学分析结果表明: 马铃薯块茎皮和肉的紫色素在根本上是源于矮牵牛素<sup>[27-29]</sup>。有研究人员认为, 从分子结构分析, 矮牵牛素的生物合成应该有 2 种可能: (1) 由花青素 (即矢车菊素) 经过甲氧基取代而成; (2) 由飞燕草素 (即花翠素、翠雀素) 经过甲基取代而成<sup>[18]</sup>。因此, 矮牵牛素生物合成的前提是: 花青素或飞燕草素的合成。花青素合成的关键酶是类黄酮 -3'-羟化酶 ( $F3'H$ ), 飞燕草素合成的关键酶是类黄酮 -3', 5'-羟化酶 ( $F3'5'H$ ), 所以, 有研究人员认为紫色马铃薯块茎花色苷生物合成关键酶基因为: 类黄酮 -3'-羟化酶基因和类黄酮 -3', 5'-羟化酶基因。

## 2 国外马铃薯块茎花色苷生物合成相关基因的研究现状

## 2.1 研究理论和相关基因的分子标记与功能

国外于花色素苷的合成代谢以及与之相关的基因研究开展地比较早,也比较深入。对花色素生物合成的遗传学研究起始于孟德尔的豌豆花色遗传研究,早期是将基因位点与易于观察的色彩变异联系起来研究的。20世纪80年代末至90年代初,植物花色素代谢途径的研究已较为成熟,有些研究人员把影响花色素代谢的基因分为结构基因和调节基

因两类，结构基因直接编码花色苷代谢生物合成的酶类，调节基因控制结构基因的表达强度和表达方式<sup>[30-31]</sup>。

花色素苷在发育过程中的合成主要通过合成的酶在量上的增加实现的,而这些合成酶量的增加则由于这些酶基因转录的增加所致,目前已发现不少调控花色素生物合成途径调控基因,并用转座子标签等方法克隆了部分基因<sup>[32-33]</sup>。

国外对马铃薯花色苷生物合成相关基因的研究以马铃薯的二倍体材料开始。认为马铃薯花色苷的合成由 3 个基因控制：P 控制着花和块茎中花翠素的产生，R 控制着块茎中酰化花葵素苷的产生和花中花青素苷的产生，二者都决定花色苷的类型；Ac 则控制着所有花色苷的酰化、葡萄糖残基在苷元 5 位的连接和花翠素、花青素衍生物的甲基化<sup>[34-35]</sup>。但是，De Jong<sup>[22]</sup>认为：①马铃薯二倍体和四倍体栽培种块茎红、紫、白的变异由 R、P 和 I 这 3 个独立的基因座控制；②R 和 P 分别负责马铃薯块茎、花、芽和茎中红、紫色花色苷色素的产生，而且 P 对于 R 具有上位性<sup>[34]</sup>，I 却是花色苷在块茎皮中的组织专一性表达所必需的<sup>[34, 36]</sup>；③基因型为 I- Rr- Pp 或 Ii-rr-P 的块茎具有紫皮，而基因型为 I-R- pp 具有红皮；④在 I 缺乏功能等位基因的马铃薯产生白色块茎<sup>[22]</sup>。R、P 和 I 分别定位于第 2、11、10 号染色体上<sup>[37-38]</sup>。此后，De Jong 的观点长期统治马铃薯色素合成相关基因的研究。

## 2.2 花色苷生物合成结构基因的克隆与功能

Jeon 等<sup>[39]</sup>克隆到马铃薯查耳酮合酶基因(*CHS*)家族两个成员的 cDNA 序列; De Jong 等<sup>[23]</sup>以番茄 *DFR* 基因为探针, 通过扫描由马铃薯的花和茎构建的 cDNA 文库, 克隆到二氢黄酮醇 4-还原酶基因(*DFR*)全长 cDNA 及其基因序列, 进一步进行 RFLP 分析、PCR 分析和共分离分析, 验证了它的功能, 他们认为 R 编码二氢黄酮醇-4-还原酶, 一个 *DFR* 的等位基因关系到马铃薯产生红色花色苷的能力。De Jong 系统分析了 R、P 和 I 的具体功能: R 是产生砖红色天竺葵素类色素所必需的, 似乎对应二氢黄酮醇 4-还原酶(*DFR*); P 是产生紫色飞燕草素(即花翠素、翠雀素)类色素所必需的, 似乎对应类黄酮-3'-5'-羟化酶(*F3'5'H*); I 是红或紫色花色苷在块茎皮中的组织专一性表达所必需的, 似乎对应于矮牵牛 Myb 型结构域转录调节基因(*AN2*)<sup>[24,40]</sup>。Jung 等<sup>[41]</sup>以矮牵牛类黄酮-3'-5'-羟化酶基因(*F3'5'H*)基因为探针, 通过扫描马铃薯的花和茎构建了 cDNA 文库, 获得了马铃薯 *F3'5'H* 基因全长 cDNA 及其基因序列。Keifenheim 等<sup>[42]</sup>克隆到马铃薯无色花色苷加双氧酶基因(*LDOX*)和类黄酮 3-O-糖基转移酶基因(*3GT*)的 cDNA 序列。

花色苷生物合成调节基因的研究也取得了较多的成果, 研究人员分别从玉米(*Zea mays*)、矮牵牛(*Petunia hybrida*)、紫苏(*Perilla frutescens*)克隆到 *an1*, *an2*, *an4*, *myb-p1* 等 20 多个调节基因, 但是没有涉及马铃薯研究成果的报道。

## 2.3 相关基因启动子的研究

国外对马铃薯花色苷生物合成相关基因启动子的研究首先从糖基转移酶基因(*GT*)的开始。Rorat 等<sup>[43]</sup>经过 cDNA 文库差异筛选获得马铃薯(*S. tuberosum*)糖基转移酶的启动子, 而他这样研究是因为糖基转移酶与马铃薯抗低温、紫外线等胁迫相关。Korobczak 等<sup>[44]</sup>进一步检测了该启动子的环境因子诱导表达特征, 发现它可被紫外线、低温、光、盐和脱落酸诱导, 低温与光、脱落酸与低温对该启动子的诱导存在增效作用, 而培养基中的蔗糖浓度高于 2% 时却抑制该启动子活性, 该启动子的细胞专一性主要体现为在叶片表皮和叶肉中高效表达, 特别是在紫外线处理的情况下, 它在茎组织中无活性, 在块茎中只在周皮内的皮层中和维管束环中表达、在根中仅表达于根毛区<sup>[45]</sup>。

## 3 国内对马铃薯花色苷生物合成相关基因的研究处于起步阶段

2006 年, 南京农业大学的 Lu 和 Yang<sup>[25]</sup>通过简并引物从马铃薯野生种和栽培种中相继完成马铃薯 4 个花色苷合成相关基因的 cDNA 克隆: 查耳酮合酶基因、黄烷酮 3-羟化酶基因(*F3H*)、二氢黄酮醇 4-还原酶基因和 UDP-葡萄糖: 类黄酮 3-O-糖基转移酶基因(*3GT*), 并对其功能进行了初步验证, 同时研究发现这 4 个基因在花、匍匐枝和顶芽中优先表达, 在根中仅 UDP-葡萄糖: 类黄酮 3-O-糖基转移酶基因表达, 在块茎皮中 4 个基因均被白光诱导表达。

## 4 研究展望

花色苷在本质上属于类黄酮, 植物茎叶细胞中如果含有较多的花色苷, 将会显著提高其抵抗 UVB 辐射、低温等不利环境条件的影响<sup>[45]</sup>。云贵高原是中国马铃薯的主产区之一, 随着全球环境恶化, 大气臭氧空洞的扩大, 地球特别是高海拔地区受到的紫外辐射越来越强, 这势必影响到高寒地区栽培的马铃薯等作物的生长, 因此培育花色苷含量高以适应高寒冷凉地区生态环境的马铃薯新品种以保证云贵高原地区马铃薯产业的可持续发展也有重要意义。

云南具有独特的立体气候, 其气候特征与马铃薯起源地—南美洲安第斯山区尤为相似, 复杂气候和生态条件使马铃薯分化出很多品系, 在云南各地出现了许多彩色马铃薯地方品种, 使云南的马铃薯种质资源尤其丰富, 如: 兰坪紫心、转心乌、剑川红、罗统紫芋、铁厂红、鹤庆红等, 为彩色马铃薯的研究利用提供了丰富的资源材料, 这些农家品种虽然具有许多缺点, 但块茎对光不敏感, 不易变绿, 块茎内不易形成对人体有害的龙葵素, 耐贮藏且食味很好<sup>[4]</sup>。随着社会发展和生活水平的提高, 彩色马铃薯开始逐渐为人们所认识, 彩色马铃薯成为功能食品也会逐渐被人们所接受, 培育彩色马铃薯新品种, 也将成为发展马铃薯产业的趋势之一。

## [参 考 文 献]

- [1] 屈冬玉, 金黎萍, 谢开云. 大力发展冬季农业 夯实粮食安全基础[M]//陈伊里. 马铃薯产业与冬作农业. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 2006: 1-6.

- [ 2 ] 刘福翠, 谭学林, 郭华春. 云南省马铃薯品种资源的 RAPD 分析[J]. 西南农业学报, 2004, 17(2): 200–204.
- [ 3 ] Zhao C L, Guo H C, Liu F C, et al. Category and content of the tuber pigment of *Solanum tuberosum* L. 'Zhuanxinwu' [J]. Acta Bot Boreal–Occident Sin, 2007, 27(10): 1953–1961.
- [ 4 ] 杨琼芬, 白建明, 杨万林, 等. 云南省彩色马铃薯产业的发展趋势和方向[J]. 中国马铃薯, 2006, 20(4): 254–255.
- [ 5 ] 何云昆, 李先平, 李树莲, 等. 云南省马铃薯的生产及品种评价[J]. 中国马铃薯, 2000, 14(2): 122–124.
- [ 6 ] 卢其能, 杨清. 马铃薯花色苷种类·含量和稳定性初步研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(16): 4811–4813.
- [ 7 ] 唐传核, 彭志英. 天然花色苷类色素的生理功能及应用前景[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2000(1): 26–28.
- [ 8 ] 赵福庚, 何龙飞, 罗庆云. 植物逆境生理生态学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 107–136.
- [ 9 ] 蒋高明, 常杰等. 植物生理生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 161–177.
- [ 10 ] 谢庆华, 李月秀, 李智, 等. 特色马铃薯色素抗肿瘤活性[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(4): 213–214.
- [ 11 ] 施明. 类黄酮抗肿瘤作用的研究进展[J]. 国外医学卫生学分册, 2001, 28(2): 96–99.
- [ 12 ] 胡隆基. 使用天然色素概述[J]. 全国食品添加剂通讯, 1993(1): 4–11.
- [ 13 ] 张俊莲, 王蒂. 我国马铃薯育种方式的变迁及其转基因育种研究进展[J]. 中国马铃薯, 2005, 19(3): 163–167.
- [ 14 ] 李灿辉, 龙维彪, 杨仕忠, 等. 马铃薯育种研究与云南马铃薯产业发展[J]. 云南农业科技, 2003(增刊): 95–101.
- [ 15 ] 郭华春. 云南薯类作物生产现状与产业化前景分析[J]. 西南农业学报, 2004, 17(增刊): 384–387.
- [ 16 ] 盛万民, 王立春, 李凤云, 等. 马铃薯品质性状分子育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 21(6): 179–182.
- [ 17 ] 戴朝曦, 孙顺娣, 于品华, 等. 用生物技术培育马铃薯加工型品种的研究[M]//陈伊里. 面向 21 世纪的中国马铃薯产业. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 2000: 103–107.
- [ 18 ] Tanaka Y, Tsuda S, Kusumi T. Metabolic engineering to modify flower color [J]. Plant Cell and Physiology, 1998, 39(11): 1119–1126.
- [ 19 ] 刘仕芸, 黄艳岚, 张树珍. 植物花青素生物合成中的调控基因[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(4): 747–754.
- [ 20 ] Holton T A, Edwina C C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis [J]. The Plant Cell, 1995, 7: 1071–1083.
- [ 21 ] Brown C R, Wroldstad R, Durst R, et al. Breeding studies in potatoes containing high concentrations of anthocyanins [J]. American Journal of Potato Research, 2003, 80: 241–250.
- [ 22 ] De Jong H. Inheritance of anthocyanin pigmentation in the cultivated potato: a critical review [J]. American Journal of Potato Research, 1991, 68: 585–593.
- [ 23 ] De Jong W S, De Jong D M, De Jong H, et al. An allele of dihydroflavonol 4–reductase associated with the ability to produce red anthocyanin pigments in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 107: 1375–1383.
- [ 24 ] De Jong W S, Eannetta N T, De Jong D M, et al. Candidate gene analysis of anthocyanin pigmentation loci in the *Solanaceae* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108: 423–432.
- [ 25 ] Lu Q N, Yang Q. cDNA cloning and expression of anthocyanin biosynthetic genes in wild potato (*Solanum pinnatisectum*) [J]. African Journal of Biotechnology, 2006, 5(10): 811–818.
- [ 26 ] Howard H W, Kukimura H, Whitmore E T. The anthocyanin pigments of the tubers and sprouts of *Tuberosum* potatoes [J]. Potato Research, 1970, 13(2): 142–145.
- [ 27 ] Lewis C E, Walker J R L, Lancaster J E, et al. Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes. I. Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L. [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998, 77: 45–57.
- [ 28 ] Naito K, Umemura Y, Mori M, et al. Acylated pelargonidin glycosides from a red potato [J]. Phytochemistry, 1998, 47: 109–112.
- [ 29 ] Rodriguez-Saona L E, Giusti M M, Wroldstad R E. Anthocyanin pigment composition of red-fleshed potatoes [J]. Journal of Food Science, 1998, 63: 458–465.
- [ 30 ] 陈丽. 植物转录因子的结构和功能[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(6): 401–409.
- [ 31 ] 葛静, 严海燕. 花色苷形成中的基因表达与调控[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 374–380.
- [ 32 ] Fukada T S, Inagaki Y, Yamaguchi T, et al. Colour-enhancing protein in blue petals [J]. Nature, 2000, 407: 581.
- [ 33 ] 包满珠. 植物花青素基因的克隆及应用[J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 279–284.
- [ 34 ] Dodds K S, Long D H. The inheritance of colour in diploid potatoes. I. Types of anthocyanidins and their genetic loci [J]. J Genet, 1955, 53: 136–149.
- [ 35 ] Harborne J B. Plant polyphenols 1. Anthocyanin production in the cultivated potato [J]. Biochemical J, 1960, 74: 262–269.
- [ 36 ] Dodds K S, Long D H. The inheritance of colour in diploid potatoes. II. A three-factor linkage group [J]. J Genet, 1956, 54: 27–41.
- [ 37 ] Van Eck H J, Jacobs J M E, van Dijk J, et al. Identification and mapping of three flower colour loci of potato (*S. tuberosum* L.) by RFLP analysis [J]. Theor Appl Genet, 1993, 86: 295–300.
- [ 38 ] Van Eck H J, Jacobs J M E, Van Den Berg P M M M, et al. The inheritance of anthocyanin pigmentation in potato (*Solanum tuberosum* L.) and mapping of tuber skin colour loci using RFLPs [J]. Heredity, 1994, 73: 410–421.
- [ 39 ] Jeon J H, Joung H, Byun S M. Characterization of two members of the Chalcone Synthase gene family from *Solanum tuberosum* L. [J]. Plant Physiol, 1996, 111: 348–348.
- [ 40 ] Quattrocchio F, Wing J F, van der Woude K, et al. Molecular analysis of the anthocyanin gene of petunia and its role in the evolution of flower color [J]. Plant Cell, 1999, 11: 1433–1444.
- [ 41 ] Jung C S, Griffiths H M, De Jong D M, et al. The potato plocus codes for flavonoid 3', 5'–hydroxylase [J]. Theor Appl Genet, 2005, 110: 269–275.
- [ 42 ] Keifenheim D L, Smith A G, Tong C B S. Cloning and accumulation of anthocyanin biosynthesis genes in developing tubers [J]. American Journal of Potato Research, 2006, 83(3): 233–239.
- [ 43 ] Rorat T, Grygorowicz W J, Berbezy P, et al. Isolation and expression of cold specific genes in potato (*Solanum soganandinum*) [J]. Plant Sci, 1998, 133: 57–67.
- [ 44 ] Korobczak A, Aksamit A, Lukaszewicz M, et al. The potato glucosyltransferase gene promoter is environmentally regulated [J]. Plant Science, 2005, 168: 339–348.
- [ 45 ] Leng P, Qi J X. Effect of anthocyanin on David peach (*Prunus davidiana* Franch) under low temperature [J]. Scientia Horticulturae, 2003, 97: 27–39.