

类胡萝卜素代谢调控与植物颜色变异

陆晨飞, 刘钰婷

(北京林业大学 园林学院, 花卉种质创新与分子育种北京市重点实验室, 国家花卉工程技术研究中心, 北京 100083)

摘 要:类胡萝卜素是植物呈色的重要色素, 植物细胞中类胡萝卜素的积累受合成、降解及存储 3 种机制共同调控, 任何一种机制上的基因发生突变, 都会影响类胡萝卜素的总体含量, 从而使植物着色发生变异。该研究概述了高等植物类胡萝卜素主要的代谢通路及调控机制, 总结了生活中常见园艺作物颜色变异品种的分子机制, 为深入研究类胡萝卜素的调控网络打下坚实基础, 为开展园艺作物类胡萝卜素代谢工程提供科学依据。

关键词:类胡萝卜素; 代谢; 调控; 颜色变异

中图分类号:Q 945.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)16-0193-07

类胡萝卜素(carotenoids)是一类重要脂溶性色素的总称, 是由异戊二烯骨架构成的 C40 或 C30 萜类化合物, 是自然界中存在最为广泛的色素群体, 目前已发现近 800 种天然类胡萝卜^[1]。类胡萝卜素的颜色范围较广, 是形成黄色、橙色至红色花的主要色素物质。在植物细胞中, 类胡萝卜素主要位于质体, 参与光形态建成和光保护等生理功能^[2], 并使高等植物的花和果实等器官呈现出各种绚丽色彩, 从而吸引鸟类和昆虫参与植物授粉和种子传播^[3]。此外, 类胡萝卜素的一些氧化酶解

产物也是脱落酸(ABA)、独角金内酯(strigolactones)等植物激素的重要前体物质, 因而其与高等植物的生长发育密切相关^[4]。

植物细胞中的类胡萝卜素由一系列结构基因所编码的酶催化合成, 且其在质体中的积累还受到类胡萝卜素降解酶及存储相关蛋白的影响^[5], 而这一系列的结构基因又被许多转录因子直接或间接的调控。这些结构基因或调控基因的变异可以导致各种颜色变异品种的形成。现概述了高等植物类胡萝卜素主要的代谢通路及调控机制, 总结了生活中常见园艺作物颜色变异品种的分子机制, 以期为深入研究类胡萝卜素的调控网络打下坚实基础, 为开展园艺作物类胡萝卜素代谢工程提供科学依据。

1 类胡萝卜素的合成及降解

高等植物类胡萝卜素主要是在细胞的质体中合成

第一作者简介:陆晨飞(1994-), 男, 博士研究生, 研究方向为花卉分子生物学。E-mail:1368668428@qq.com.

基金项目:北京市大学生科学研究与创业行为计划资助项目(201510022020)。

收稿日期:2016-05-05

Research Progress on Diversity of Germplasm Resource in *Hemerocallis*

REN Yi, GAO Yike, ZHU Lin, ZHANG Qixiang

(Landscape Architecture, School Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract: 11 of 14 species in *Hemerocallis* native to China. Its natural range are concentrated in East Asia. Studies on resource classification and group analysis, reflect the diversity of germplasm resources in the genus *Hemerocallis* in terms of morphology, cytology, molecular, isozyme, palynology. The results showed that genetic variation was associated with the location, environment and genetic variation among populations. Plants in *Hemerocallis* genus might have originated in different pedigrees and *Citrina* which bloom at night was considered to be evolutionary group. There are problems of classification and evolutionary relationships among populations, such as naming and classification confusion, unclear distinction between species and varieties, variation exists with different geographical groups, natural hybrid populations in *Hemerocallis*. Therefore comprehensive and systematic investigation of the population should be studied in origin China.

Keywords: *Hemerocallis*; germplasm resources; diversity; phylogeny

高植物非绿色组织的类胡萝卜素含量,这也使得 *PSY* 基因成为植物类胡萝卜素基因工程改良首选的目的基因^[7]。紧接着,无色的八氢番茄红素经历了由八氢番茄红素脱氢酶(PDS)和 ζ -胡萝卜素脱氢酶(ZDS)所催化的脱氢反应以及由 ζ -胡萝卜素异构酶(Z-ISO)和胡萝卜素异构酶(CRTISO)所催化的异构反应之后,形成了红色的全反式番茄红素,而该色素正是番茄、西瓜等常见果蔬的主要呈色物质^[8]。

番茄红素的环化是类胡萝卜素代谢过程中的一个重要分支点。根据直链态番茄红素两端环化基团的差异,类胡萝卜素生物合成通路在番茄红素之后可分为2个分支: β,β -类胡萝卜素分支以及 β,ϵ -类胡萝卜素分支。 β,β -类胡萝卜素分支指在番茄红素的两端各生成1个 β 环,在该分支通路上主要催化合成 β -胡萝卜素及其衍生物;而 β,ϵ -类胡萝卜素分支指在番茄红素的两端分别生成1个 β 环和1个 ϵ 环,在该分支通路上主要催化合成 α -胡萝卜素及其衍生物。与环化基团相对应的,在高等植物中存在2种不同形式的番茄红素环化酶(LCYb和LCYe)。在大多数情况下,番茄红素 ϵ -环化酶(LCYe)只能催化番茄红素的一端形成 ϵ 环,生成 δ -胡萝卜素;而番茄红素 β -环化酶(LCYb)可使对称的番茄红素的2个末端均形成 β 环,生成 β -胡萝卜素。而若分子的2个末端分别被LCYB和LCYE催化,形成 β 环和 ϵ 环,即为 α -胡萝卜素^[9-10]。但是,在某些植物突变体如莴苣的突变体中,由于其LCYE上的单个氨基酸发生突变导致酶活性的增强,从而催化合成了具有双 ϵ 环结构的 ϵ,ϵ -胡萝卜素及其衍生物莴苣黄素^[11]。

环化后的胡萝卜素(carotenes)在羟化酶和环氧化酶的催化下加氧形成含氧类胡萝卜素(xanthophylls)。在高等植物体内,存在2种不同类型的羟化酶,一种羟化酶为CHYB(BCH)类型,其可以羟基化胡萝卜素上的 β 环;而另一种羟化酶为细胞色素P450类型,主要包括CYP97A和CYP97C,二者分别羟基化胡萝卜素上的 β 环和 ϵ 环。在 β, ϵ 分支中 α -胡萝卜素被细胞色素P450类型的羟化酶CYP97A、CYP97C羟基化后形成叶黄素(lutein)。在大多数情况下,叶黄素是 β, ϵ 分支的最终产物。但在一些特殊的植物中,叶黄素可以继续被环氧化形成叶黄素的环氧衍生物。然而至今为止科学家们并没有明确参与该反应的酶及其作用机制^[12]。而在 β, β 分支中, β -胡萝卜素在 β -胡萝卜素羟化酶(CHYB)的作用下转变为 β -隐黄质(β -cryptoxanthin),进而生成黄色的玉米黄质(zeaxanthin)。玉米黄质在玉米黄质环氧化酶(ZEP)作用下生成花药黄质(antheraxanthin),进而生成萆菜黄质(violaxanthin)^[13]。在强光下,萆菜黄质可在萆

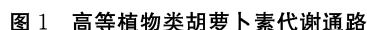


Fig. 1 Carotenoid metabolism pathway in high plants

1.1 类胡萝卜素的合成途径

类胡萝卜素最初来源于 2 个异戊二烯异构体,包括异戊二烯焦磷酸(IPP)和它的异构体二甲基丙烯基二磷酸(DMAPP)。在植物细胞中,类胡萝卜素前体物质 IPP 和 DMAPP 主要通过 MEP 途径合成^[6]。而其中 DXS 和 DXR 是 MEP 途径中最为关键的 2 个代谢酶^[5]。随后,在 IPP 异构酶(PI)和牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸合酶(GGPPS)的作用下,二甲基丙烯基焦磷酸(DMAPP)与 3 分子 IPP 缩合成 C₂₀ 的牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(GGPP)。GGPP 是胡萝卜素(carotenes)生物合成的直接前体,在八氢番茄红素合成酶(PSY)的作用下,2 分子的 GGPP 缩合产生无色的八氢番茄红素。因而 PSY 成为了类胡萝卜素合成途径的首要限速酶,其也是至今为止研究最多的、最为深入的类胡萝卜素代谢酶。此外,由于诱导 PSY 组成型特异表达和功能型特异超表达,可以显著提

菜黄质脱环氧酶(VDE)作用下重新生成玉米黄质,这种可逆反应在植物体适应不同的光照条件过程中起着重要的作用,该反应被称为莖菜黄质循环(violaxanthin cycle)。此外,莖菜黄质在新黄质合成酶(NXS)的催化作用下生成新黄质,其为 ABA 的合成前体,也是 β,β 分支上的最后一个产物。此外,在辣椒果实及卷丹花瓣中,存在一种辣椒红素合成酶(CCS),其可以催化花药黄质和紫黄质生成辣椒红素(capsanthin)和辣椒玉红素(capsorubin)。而正是这 2 种色素的存在使得辣椒果实和卷丹花瓣呈现出红色^[14-15]。

1.2 类胡萝卜素的降解途径

植物细胞中合成的类胡萝卜素在类胡萝卜素裂解双加氧酶(CCDs,有时也作 CCOs)的催化下,可以氧化裂解形成许多脱辅基类胡萝卜素(apocarotenoids),包括植物激素(ABA 和独脚金内酯)、花和果实中的色素物质以及芳香类物质等。类胡萝卜素裂解双加氧酶(CCDs)是一个小的基因家族,其中不同的基因家族成员所识别的底物、切割的位点以及生成的产物不尽相同^[16]。

根据拟南芥的全基因组序列,科学家们从拟南芥中共发现了 9 种不同的亚家族,包括 5 个 *NCEDs*——*NCED2*、*NCED3*、*NCED5*、*NCED6* 和 *NCED9* 以及 4 个 *CCDs*——*CCD1*、*CCD4*、*CCD7* 和 *CCD8*^[17]。其中,*CCD1* 主要参与植物芳香类物质的形成,拟南芥的 *AtCCD1* 可将 β -胡萝卜素裂解生成香气的重要组成成分 β -紫罗酮和 C_{17} 的二醛^[18]。从矮牵牛和番茄中分离出来的 *PhCCD1* 和 *LeCCD1* 同样可以裂解类胡萝卜素,形成 β -紫罗酮和香叶基丙酮^[19-20]。*CCD4* 主要参与植物花和果实中色素物质的形成,桃 *PpCCD4* 功能缺失突变体的果肉颜色呈现黄色,含有大量类胡萝卜素,说明 *PpCCD4* 参与桃果肉中类胡萝卜素降解^[21];而在菊花中,由于 *CmCCD4a* 基因在白色花瓣中的特异性表达使花瓣内的类胡萝卜素降解成为无色物质,从而导致其花色变为白色^[22]。*CCD7* 和 *CCD8* 所编码的酶均定位于质体中,主要参与植物分枝的信号物质(独脚金内酯)的合成^[23];而 *NECDs* 则是控制类胡萝卜素向 ABA 转化的限速酶,主要催化紫黄质或新黄质裂解形成 ABA 前体^[24]。此外,最近的研究表明在藏红花(*Crocus sativus*)中还存在一个新的基因家族成员——*CCD2*,该成员与 *CCD1* 具有相似的功能,参与着植物中藏红花素(crocin)的合成^[25]。

2 类胡萝卜素的代谢调控

在植物细胞中,类胡萝卜素的合成、降解及存储机制共同决定着类胡萝卜素的积累^[26]。因此,对这 3 种机制进行调控可以有效地调节植物体内类胡萝卜素的总

体含量。而在植物体中,调控往往是多层次并存的,因而该研究主要从转录水平、转录后水平、存储水平以及表观遗传 4 个层面来阐述高等植物类胡萝卜素代谢的调控机制。

2.1 转录水平的调控

在高等植物花和果实发育过程中,转录水平的调控是决定类胡萝卜素代谢相关基因表达的最关键的机制。研究发现,随着番茄果实的成熟,合成番茄红素的上游相关基因表达量显著上升,而下游基因的表达量明显下降^[27]。与之相似的,随着辣椒的成熟,与辣椒红素合成相关基因 *CCS* 的表达量明显上升^[28]。此外,通过对植物突变体的研究同样发现转录水平的调控在类胡萝卜素积累过程中起着至关重要的作用。研究表明‘暗柳’甜橙突变体‘红暗柳’的形成源于合成番茄红素的上游基因上调表达和下游基因下调表达的协同作用^[29]。西瓜的黄肉突变体表现出黄色性状与合成莖菜黄质的上游基因显著上调密切相关^[30]。而植物类胡萝卜素代谢相关基因转录水平的调控常在转录因子(TFs)及代谢中间产物的介导下进行。

2.1.1 转录因子调控 虽然高等植物类胡萝卜素合成途径中几乎所有的结构基因均已被分离和鉴定,但是关于调控类胡萝卜素生物合成的调节基因的报道却十分有限。随着研究的深入,人们从模式植物(拟南芥、番茄)中发现了许多转录因子,但是其中大多数转录因子都是通过调控植物果实的发育从而间接影响类胡萝卜素的积累,主要包括 MADS-box 转录因子家族的 TAGL1、TDR4、SQUAMOSA 启动子结合蛋白 CNR, AP2/ERF 转录因子家族的 AP2a、SIERF6 以及具有 NAC 结构域的 NOR 和 SINAC4。而只有少数转录因子可以直接作用于结构基因,通过调控结构基因的表达从而影响类胡萝卜素的积累,主要包括 PIF1、RAP2.2、RIN、SGR1、RCP1。光敏色素作用因子(PIFs)属于 bHLH 转录因子家族,主要参与广泛的光调控反应。研究表明,拟南芥中的 PIF1 可以特异性识别 *PSY* 基因启动子序列中的 G-BOX(CACGTG),从而抑制 *PSY* 基因的表达^[31]。与之相似的,从拟南芥中还发现了隶属于 APETALA2(AP2)家族的转录因子 *AtRAP2.2*,该转录因子可以特异性的结合到 *PSY*、*PDS* 基因的启动子上,从而调控植物类胡萝卜素的合成^[32]。*RIN*(Ripening inhibitor)是 MADS-box 转录因子家族的成员,在调控果实成熟过程中起着非常重要的作用^[33]。利用染色质免疫共沉淀技术结合基因芯片分析的方法(Chip-chip)发现 *RIN* 可以特异性的与许多类胡萝卜素代谢相关基因结合从而调控类胡萝卜素的积累。在番茄中,*RIN* 可以直

接促进 *PSY1*、*ZISO*、*CRTISO* 基因的表达,间接抑制 *LCYB*、*LCYE* 基因的表达^[34]。番茄滞绿蛋白 *SlSGR1* (*STAY-GREEN*)是调控细胞中叶绿素降解的重要蛋白,近期有研究表明 *SlSGR1* 同样影响着类胡萝卜素的合成。在番茄中,*SlSGR1* 主要通过和 *PSY1* 互作从而抑制 *PSY1* 基因的表达,降低番茄中番茄红素的合成^[35]。最近人们从猴面花(*Mimulus lewisii*)中发现了一种新型的转录因子 *RCP1*,该转录因子隶属于 *R2R3* 型 *MYB* 转录因子家族,在促进花瓣类胡萝卜素合成过程中起着至关重要的作用。利用 *RNAi* 技术抑制 *RCP1* 基因的表达之后,转基因植株中所有与类胡萝卜素合成相关的基因的表达量都下调,并且类胡萝卜素的总体含量也有一定程度的减少^[36]。

2.1.2 反馈调控 类胡萝卜素代谢中间产物的反馈机制同样影响着类胡萝卜素合成过程中转录水平的调控。*CAMPISI* 等^[37]研究发现向日葵中八氢番茄红素的积累会导致 *PSY* 基因表达量的降低。*KACHANOVSKY* 等^[38]对双突变体 *tr* 的遗传背景进行分析后发现 *PSY1* 的转录得到部分恢复,使其可以继续合成八氢番茄红素和下游类胡萝卜素,故推测可能是顺式类胡萝卜素的一些代谢产物参与了 *PSY1* 的反馈调控。

2.2 转录后水平的调控

在类胡萝卜素的代谢过程中,除转录调控外,转录后水平的调控同样非常重要。酶是植物中许多生化反应的直接参与者,因而酶的活性往往决定着代谢产物的总含量。在植物细胞中类胡萝卜素合成酶主要是以多酶复合体形式定位于质体膜,从而催化类胡萝卜素的生物合成和相互转化,因而其生理活性与膜结合程度密切相关。在水仙有色体中游离型的 *PSY* 和 *PDS* 均没有生理活性,而与膜结合后,其生理活性便迅速被激活^[39]。在白芥幼苗的白化体中,*PSY* 以无活性状态定位于原片层体上,而在光照条件下,*PSY* 与类囊体膜相结合,其活性和酶量也迅速增加^[40]。

此外,近期研究表明植物可以通过蛋白与蛋白相互作用的形式从而影响酶的含量及活性。在拟南芥中,*OR* 蛋白对 *PSY* 基因的表达并没有过多的影响,其主要通过与 *PSY* 蛋白相互作用,从而促进 *PSY* 蛋白水平的活性,提高拟南芥中类胡萝卜素的总体含量^[41]。番茄中的滞绿蛋白 *SlSGR1* 能够与 *SlPSY1* 互作,从而抑制该酶的活性,使转基因植株中类胡萝卜素含量下降^[35]。

2.3 储存水平调控

质体是植物类胡萝卜素合成及储存的主要场所,因而通过影响植物细胞中质体的大小、数量及分化同样可以调控类胡萝卜素的积累。在番茄高色素(*high pigment*,

hp)突变体 *hp1* 和 *hp2* 中,光信号蛋白通过调控早期果实中质体的发育,增加质体的数量以及增大质体的大小从而促进类胡萝卜素的生成及积累^[42]。在 *hp3* 番茄突变体中由于 *ZEP* 基因发生突变,导致 *ABA* 含量降低,从而引起细胞中质体的体积增大,使绿果中的类胡萝卜素和叶绿素含量增加^[43]。

花椰菜 *Or* 突变体中的 *Or* (*Orange*)基因是一个功能获得型基因,其编码一个含有半胱氨酸 *DnaJ* 保守域的质体相关蛋白,该蛋白并没有直接参与类胡萝卜素的合成,而是通过诱导有色体的分化从而引起了类胡萝卜素积累代谢库的变化^[44]。马铃薯 *Or* 转基因系的块茎因过量表达 *Or* 基因以致于积累大量类胡萝卜素而呈现橙黄色^[45-46]。*KIM* 等^[47]将黄色甘薯中的 *Or* 基因转入到白色甘薯的愈伤组织后发现该愈伤组织积累有大量类胡萝卜素,且其抗氧化性和耐盐性同样有很大提高。此外,人们还从番茄中分离出来了一种低分子量的分子伴侣 *HSP21*,其具有与花椰菜 *OR* 蛋白相似的功能,即促进植物组织中的叶绿体转化为有色体,从而有利于类胡萝卜素的积累^[48]。

2.4 表观遗传水平的调控

常见的表观遗传调控主要通过 DNA 的甲基化以及组蛋白的修饰来完成。*CHIOU* 等^[49]分析了文心兰不同花色植株的形成机理,发现 *OgCCD1* 的表达是导致文心兰形成白色花品种的原因。而在文心兰黄花品种中,由于 *OgCCD1* 的启动子区域存在甲基化,使得该基因失活,从而积累了类胡萝卜素。*HAN* 等^[50]通过对桂花品种‘*Yingui*’和‘*Dangui*’的 *OfCCD4* 的启动子进行甲基化分析,发现‘*Dangui*’品种的甲基化率为 50.18%,远高于‘*Yingui*’品种的 43.87%,该结果表明桂花不同品种类胡萝卜素的含量可能与类胡萝卜素降解相关基因的甲基化差异有关。此外,近期研究表明,拟南芥中的组氨酸甲基转移酶 *SDG8* (*SET DOMAIN GROUP 8*)通过维持染色质甲基化状态调控幼苗发育过程中 *CRTISO* 的表达。而 *SDG8* 的突变导致 *CRTISO* 翻译起始位点附近甲基化状态发生改变,从而引起 *CRTISO* 表达量降低,使得拟南芥中叶黄质含量明显减少^[51]。

3 类胡萝卜素代谢途径改变导致的颜色差异

植物细胞中类胡萝卜素的积累受合成、降解及存储 3 条途径共同作用,任何 1 条途径上的基因发生突变都会影响类胡萝卜素的总体含量,从而使得植物着色或多或少的发生改变。生活中许多常见蔬菜、水果和花卉的颜色变异品种正是由这些改变引起的。然而导致基因发生突变的分子机制有很多,目前的研究主要集中在

DNA 序列缺失、DNA 的甲基化、转座子的插入、错义突变以及无义突变的介导等方面,其中由于 DNA 甲基化亦属于表观遗传调控,在此不做重复。

3.1 DNA 序列缺失

DNA 序列的缺失常常会导致该基因无法编码或者所编码出来的酶失去活性。人们发现白色菊花的形成源于类胡萝卜素裂解基因 *CmCCD4a* 的表达,而在黄色菊花中,由于该基因的 DNA 序列发生缺失,导致其无法转录该基因,从而积累了大量的类胡萝卜素^[22]。FU 等^[52]比较了枇杷不同品种 *PSY2A* 基因的 DNA 全长之后发现,白肉枇杷品种由于其 *PSY2A* 基因的 DNA 序列片段发生缺失,虽然该基因同样可以转录,但是由于其所编码的酶缺少了一部分氨基酸,从而导致该酶失去了活性,因而使得白肉枇杷品种中的类胡萝卜素含量远低于红肉品种。

3.2 转座子的插入

植物中的转座子是植物基因组中一类可移动的遗传元件,以高拷贝广泛分布于植物基因组中,具有高度的异质性,可被某些生物或非生物逆境激活并通过纵向和横向在物种内和物种间传递。ZHANG 等^[53]利用图位克隆发现 *BnaC3.CCD4* 是决定油菜花色的关键因子,该基因的表达导致油菜形成白色花。深入研究发现在黄色油菜的 *BnaC3.CCD4* 序列中插入了一段 CACTA-like 的转座元件(TE1),导致该基因失去活性,从而使得油菜表现出黄色。LU 等^[44]在研究花椰菜 *Or* 突变体中发现该突变体的产生缘于在 *Or* 基因中插入了一个末端具有一段重复序列的反转录转座子。此外,ADAMI 等^[21]认为白色果肉桃的形成缘于 *PpCCD4* 的高表达,而在黄色果肉的桃品种中,至少存在有 3 种独立的突变机制从而使 *PpCCD4* 完全失活,其中之一即是由反转录转座子的插入所引起。

3.3 错义突变的介导

错义突变指 DNA 分子中的核苷酸置换后改变了 mRNA 上的遗传密码,从而导致合成的多肽链中一个氨基酸被另一氨基酸所取代。错义突变后所编码的蛋白质和酶常常失去活性,但是同样可能产生具有更强活性的蛋白质和酶。在甜瓜中,由于 *Or* 基因发生了单个核苷酸的点突变,使得原来的精氨酸转变成了组氨酸,导致有色体中积累大量的 β -胡萝卜素,从而表现出橙色的果肉^[54]。此外,木薯中的 *PSY2* 同样由于错义突变导致酶活性的上升,从而引起类胡萝卜素的大量积累,使得木薯根的颜色由白色变成黄色^[55]。

3.4 无义突变的介导

无义突变是指由于某个碱基的改变使代表某种氨

基酸的密码子突变为终止密码子,从而使肽链合成提前终止。番茄是研究类胡萝卜素的模式植物,常见番茄突变体的果实主要表现为黄色和橙色。研究表明,橙色突变体的形成源于 *CRTISO* 基因中插入了一个核苷酸使得终止密码子提前,而黄色突变体的形成源于 *PSY1* 基因上编码第 151 号色氨酸的密码子发生突变导致终止密码子提前^[38]。此外,在黄色果肉的桃品种中,ADAMI 等^[21]认为除了反转录转座子插入所引起的突变导致 *PpCCD4* 基因的失活,还可能缘于 *PpCCD4* 基因中存在的点突变造成了终止密码子的提前,从而使得目的基因失活。在辣椒中,*Ccs* 基因是决定辣椒果色的关键因子。以前的研究认为黄色性状的出现缘于辣椒基因组中 *Ccs* 基因的序列发生缺失,但 HA 等^[56]第一次在黄色辣椒突变种中发现了 *Ccs* 基因,深入研究发现黄色辣椒变种中 *Ccs* 基因未表达的原因即为该基因发生点突变导致终止密码子提前,从而使其失去活性。

4 总结与展望

高等植物类胡萝卜素代谢途径的研究已为相关领域提供了极大的理论指导,而其中以这些理论为基础进行的分子育种在一些物种中也已初见成效,如“黄金大米”“黄金油菜”等。但是,目前对于类胡萝卜素代谢途径的研究成果基本还只局限于结构基因层面,虽然近年来人们对类胡萝卜素代谢的调控机制有了一定的认识,但尚不透彻。此外,关于类胡萝卜素代谢酶在质体中的具体定位以及代谢酶与酶之间的协同作用机制同样知之甚少,这也是未来研究的方向^[57]。相信随着研究的日渐深入,会对这条途径有更清晰的认识,进而通过基因工程或环境条件的调节更好地改良和利用植物类胡萝卜素资源。

参考文献

- [1] JOHNSON J D. Do carotenoids serve as transmembrane radical channels? [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 47: 321-323.
- [2] POLIVKA T, FRANK H A. Molecular factors controlling photosynthetic light harvesting by carotenoids [J]. Accounts of Chemical Research, 2010, 43: 1125-1134.
- [3] CAZZONELLI C I, POGSON B J. Source to sink: Regulation of carotenoid biosynthesis in plants [J]. Trends Plant Science, 2010(15): 266-274.
- [4] XIE X, YONEYAMA K. The strigolactone story [J]. Annual Review of Phytopathology, 2010, 48: 93-117.
- [5] OHMIYA A. Qualitative and quantitative control of carotenoid accumulation in flower petals [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 163: 10-19.
- [6] EISENREICH W, BACHER A, ARIGONI D, et al. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2004, 61: 1401-1426.
- [7] KIM M J, KIM J K, KIM H J, et al. Genetic modification of the soybean to enhance the β -carotene content through seed-specific expression [J]. PLoS

One, 2012, 7(10): e48287.

[8] ISAACSON T, OHAD I, BEYER P, et al. Analysis in vitro of the enzyme CRTISO establishes a poly-cis-carotenoid biosynthesis pathway in plants [J]. Plant Physiology, 2004, 136: 4246-4255.

[9] CUNNINGHAM F X, POGSON B, SUN Z R, et al. Functional analysis of the beta and epsilon lycopene cyclase enzymes of Arabidopsis reveals a mechanism for control of cyclic carotenoid formation [J]. Plant Cell, 1996(8): 1613-1626.

[10] RONEN G, COHEN M, ZAMIR D, et al. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for lycopene epsilon-cyclase is downregulated during ripening and is elevated in the mutant delta [J]. Plant Journal, 1999(17): 341-351.

[11] CUNNINGHAM F X, GANTT E. One ring or two? Determination of ring number in carotenoids by lycopene epsilon-cyclases [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001, 98(5): 2905-2910.

[12] FORSTER B, POGSON B J, OSMOND C B. Lutein from deepoxidation of lutein epoxide replaces zeaxanthin to sustain an enhanced capacity for non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching in avocado shade leaves in the dark [J]. Plant Physiology, 2011, 156: 393-403.

[13] ZHU C, YAMAMURA S, NISHIHARA M, et al. cDNAs for the synthesis of cyclic carotenoids in petals of *Gentiana lutea* and their regulation during flower development [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2003, 1625: 305-309.

[14] JEKNIC Z, MORRE J T, JEKNIC S, et al. Cloning and functional characterization of a gene for capsanthin-capsorubin synthase from tiger lily (*Lilium lancifolium* Thunb. 'Splendens') [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2012, 1899: 1899-1912.

[15] GUZMAN I, HAMBY S, ROMERO J, et al. Variability of carotenoid biosynthesis in orange colored *Capsicum* spp. [J]. Plant Sci, 2010, 179: 49-59.

[16] WALTER M H, STRACK D. Carotenoids and their cleavage products: biosynthesis and functions [J]. Natural Product Reports, 2011(28): 663-692.

[17] TAN B C, JOSEPH L M, DENG W T, et al. Molecular characterization of the Arabidopsis 9-cis epoxycarotenoid dioxygenase gene family [J]. Plant Journal, 2003, 35: 44-56.

[18] SCHMIDT H, KURTZER R, EISENREICH W, et al. Molecular characterization of the Arabidopsis 9-cis epoxycarotenoid dioxygenase gene family [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(15): 9845-9851.

[19] SIMKIN A J, SCHWARTZ S H, AULDRIDGE M, et al. The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone [J]. Plant Journal, 2004, 40: 882-892.

[20] SIMKIN A J, UNDERWOOD B A, AULDRIDGE M, et al. Circadian regulation of the PhCCD1 carotenoid cleavage dioxygenase controls emission of β -ionone, a fragrance volatile of petunia flowers [J]. Plant Physiology, 2004, 136: 3504-3514.

[21] ADAMI M, DE F P, BRANDI F, et al. Identifying a carotenoid cleavage dioxygenase (*ccd4*) gene controlling yellow/white fruit flesh color of peach [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(5): 1166-1175.

[22] OHMIYA A, KISHIMOTO S, AIDA R, et al. Carotenoid cleavage dioxygenase (*CmCCD4a*) contributes to white color formation in chrysanthemum petals [J]. Plant Physiology, 2006, 142: 1193-1201.

[23] RUYTER-SPIRA C, AL-BABILI S, VAN DER KROL S, et al. The biology of strigolactones [J]. Trends in Plant Science, 2013(18): 72-83.

[24] SCHWARTZ S H, TAN B C, GAGE D A, et al. Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize [J]. Science, 1997, 276: 1872-1874.

[25] FRUSCIANTE S, DIRETTO G, BRUNO M, et al. Novel carotenoid cleavage dioxygenase catalyzes the first dedicated step in saffron crocin biosynthesis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111: 12246-12251.

[26] LI L, YUAN H. Chromoplast biogenesis and carotenoid accumulation [J]. Arch Biochem Biophys, 2013, 539: 102-109.

[27] FRASER P D, TRUESDALE M R, BIRD C R, et al. Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development (evidence for tissue-specific gene expression) [J]. Plant Physiology, 1994, 105: 405-413.

[28] HUGUENEY P, BOUVIER F, BADILLO A, et al. Developmental and stress regulation of gene expression for plastid and cytosolic isoprenoid pathways in pepper fruits [J]. Plant Physiology, 1996, 111: 619-626.

[29] LIU Q, XU J, LIU Y Z, et al. A novel bud mutation that confers abnormal patterns of lycopene accumulation in sweet orange fruit (*Citrus sinensis* L. Osbeck) [J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58: 4161-4171.

[30] LYU P, LI N, LIU H, et al. Changes in carotenoid profiles and in the expression pattern of the genes in carotenoid metabolisms during fruit development and ripening in four watermelon cultivars [J]. Food Chemistry, 2015, 174: 52-59.

[31] TOLEDO-ORTIZ G, HUQ E, RODRIGUEZ-CONCEPCION M. Direct regulation of phytoene synthase gene expression and carotenoid biosynthesis by phytochrome-interacting factors [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107: 11626-11631.

[32] WELSCH R, MAASS D, VOEGEL T, et al. Transcription factor RAP2 and its interacting partner SINAT2: stable elements in the carotenogenesis of Arabidopsis leaves [J]. Plant Physiology, 2007, 145(3): 1073-1085.

[33] VREBALOV J, RUEZINSKY D, PADMANABHAN V, et al. A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato ripening-inhibitor (*rin*) locus [J]. Science, 2002, 296: 343-346.

[34] FUJISAWA M, NAKANO T, SHIMA Y, et al. A large-scale identification of direct targets of the tomato MADS box transcription factor RIPENING INHIBITOR reveals the regulation of fruit ripening [J]. Plant Cell, 2013, 25: 371-386.

[35] LUO Z D, ZHANG J H, LI J, et al. A STAY-GREEN protein SSGR1 regulates lycopene and β -carotene accumulation by interacting directly with SPSY1 during ripening processes in tomato [J]. New Phytologist, 2013, 198: 442-452.

[36] JANELLE M S, LAUREN E S, AMY M L, et al. An R2R3-MYB transcription factor regulates carotenoid pigmentation in *Mimulus lewisii* flowers [J]. New Phytologist, 2015, 209: 1049-1057.

[37] CAMPISI L, FAMBRINI M, MICHELOTTI V, et al. Phytoene accumulation in sunflower decreases the transcript levels of the phytoene synthase gene [J]. Plant Growth Regulation, 2006, 48: 79-87.

[38] KACHANOVSKY D E, FILLER S, ISAACSON T, et al. Epistasis in tomato color mutations involves regulation of *phytoene synthase 1* expression by cis-carotenoids [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109: 19021-19026.

[39] AL-BABILI S, VONLINTIG J, HAUBRUCK H, et al. A novel, soluble form of phytoene desaturase from *Narcissus pseudonarcissus* chromoplasts is Hsp70-complexed and competent for flavinylation, membrane association and

enzymatic activation[J]. *Plant Journal*, 1996(9):601-612.

[40] WELSCH R, BEYER P, HUGUENEY P, et al. Regulation and activation of phytoene synthase, a key enzyme in carotenoid biosynthesis, during photomorphogenesis[J]. *Planta*, 2000, 211:846-854.

[41] ZHOU X J, WELSCH R, YANG Y, et al. Arabidopsis OR proteins are the major posttranscriptional regulators of phytoene synthase in controlling carotenoid biosynthesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112:3558-3563.

[42] LIU Y, ROOF S, YE Z, et al. Manipulation of light signal transduction as a means of modifying fruit nutritional quality in tomato[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101:9897-9902.

[43] GALPAZ N, WANG Q, MENDA N, et al. Absciscic acid deficiency in the tomato mutant high-pigment 3 leading to increased plastid number and higher fruit lycopene content[J]. *Plant Journal*, 2008, 53:717-730.

[44] LU S, van ECK J, ZHOU X, et al. The cauliflower *Or* gene encodes a *DnaJ* cysteine-rich domain-containing protein that mediates high levels of β -carotene accumulation[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(12):3594-3605.

[45] LOPEZ A B, van ECK J, CONLIN B J, et al. Effect of the cauliflower *Or* transgene on carotenoid accumulation and chromoplast formation in transgenic potato tubers[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59:213-223.

[46] LI L, YANG Y, XU Q, et al. The *Or* gene enhances carotenoid accumulation and stability during post-harvest storage of potato tubers[J]. *Molecular Plant*, 2012(5):339-352.

[47] KIM S H, AHN Y O, AHN M J, et al. Cloning and characterization of an Orange gene that increases carotenoid accumulation and salt stress tolerance in transgenic sweetpotato cultures[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 70:445-454.

[48] NETA-SHARIR I, ISAACSON T, LURIE S, et al. Dual role for tomato heat shock protein 21: protecting photosystem II from oxidative stress and

promoting color changes during fruit maturation[J]. *The Plant Cell*, 2005 (17):1829-1838.

[49] CHIOU C Y, PAN H A, CHUANG Y N, et al. Differential expression of carotenoid-related genes determines diversified carotenoid coloration in floral tissues of *Oncidium* cultivars[J]. *Planta*, 2010, 232(4):937-948.

[50] HAN Y, WANG X, CHEN W, et al. Differential expression of carotenoid-related genes determines diversified carotenoid coloration in flower petal of *Osmanthus fragrans*[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2013, 10(2):329-338.

[51] CAZZONELLI C I, CUTTRISS A J, COSSETTO S B, et al. Regulation of carotenoid composition and shoot branching in Arabidopsis by a chromatin modifying histone methyltransferase, SDG8[J]. *Plant Cell*, 2009, 21(1):39-53.

[52] FU X M, FENG C, WANG C Y, et al. Involvement of multiple phytoene synthase genes in tissue and cultivar-specific accumulation of carotenoids in loquat[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 63:4679-4689.

[53] ZHANG B, LIU C, WANG Y Q, et al. Disruption of a *CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE 4* gene converts flower colour from white to yellow in *Brassica* species[J]. *New Phytologist*, 2015(4):1513-1526.

[54] TZURI G, ZHOU X, CHAYUT N, et al. A 'golden' SNP in *CmOr* governs fruit flesh color of melon (*Cucumis melo*) [J]. *Plant Journal*, 2015, 82:267-279.

[55] WELSCH R, ARANGO J, BAR C, et al. Provitamin A accumulation in cassava (*Manihot esculenta*) roots driven by a single nucleotide polymorphism in a phytoene synthase gene[J]. *Plant Cell*, 2010(22):3348-3356.

[56] HA S H, KIM J B, PARK J S, et al. A comparison of the carotenoid accumulation in Capsicum varieties that show different ripening colours; deletion of the capsanthin-capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(12):3135-3144.

[57] NAZIA N, LI L, SHAN L, et al. Carotenoid Metabolism in Plants[J]. *Molecular Plant*, 2015(8):68-82.

Plant Color Mutants and the Regulation of Carotenoids Metabolism

LU Chenfei, LIU Yuting

(Landscape Architecture School/Beijing Key Laboratory of Ornamental Plants Germplasm Innovation & Molecular Breeding/National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract: Carotenoids are widely synthesized in plants to provide coloration, and the factors affecting carotenoid accumulation in plants other than biosynthesis had also been reported that one is degradation and sink capacity for carotenoids. Genetic mutations related to these three pathways, either in structural or regulatory genes, often influenced the content of carotenoids which caused unique color varieties. This review summarized progress made in the carotenoids metabolism pathway including its regulation and described the molecular mechanisms of commonly seen color mutants for the in-depth study of carotenoids regulatory networks in the future and the carotenoid metabolic engineering which aimed to improve the value of nutrition.

Keywords: carotenoid; metabolism; regulation; color mutants