

## 过表达*IbMYB1*基因甘薯增强了对土壤干旱胁迫的抗性

陈晓丽<sup>1,2</sup>, 李红兵<sup>2,\*</sup>, 孙振玫<sup>3</sup>, 李孟洁<sup>2</sup>, 李雨霖<sup>2</sup>, 郭尚洙<sup>4</sup>, 邓西平<sup>2</sup>

西北农林科技大学<sup>1</sup>生命科学学院, <sup>2</sup>水土保持研究所, 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, <sup>3</sup>林学院, 陕西杨凌 712100; <sup>4</sup>韩国生命工学研究院植物系统工程研究中心, 大田305-806, 韩国

**摘要:** 以超表达甘薯MYB1基因(*IbMYB1*)的转基因甘薯(TS)以及未转基因甘薯(NT)为实验材料, 在盆栽条件下对成活苗进行干旱胁迫处理, 研究转基因与未转基因甘薯在干旱胁迫后, 膜脂过氧化及抗氧化系统中主要指标的变化情况。结果表明, 在干旱胁迫条件下, 转基因甘薯花青素含量显著增加, 薯块中花青素含量最高为对照的7倍; 转基因和未转基因甘薯在土壤干旱条件下叶绿素含量降低; 超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)和丙二醛(MDA)含量增加, 转基因甘薯的增加幅度低于未转基因甘薯; 转基因甘薯超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性都高于未转基因甘薯。这些结果表明超表达*IbMYB1*基因可以降低甘薯在干旱胁迫条件下受损害的程度。

**关键词:** 转基因甘薯; 干旱胁迫; 抗氧化系统; 花青素

## Overexpression of *IbMYB1* Gene Enhanced Tolerance to Soil Drought Stress in Sweet Potato

CHEN Xiao-Li<sup>1,2</sup>, LI Hong-Bing<sup>2,\*</sup>, SUN Zhen-Mei<sup>3</sup>, LI Meng-Jie<sup>2</sup>, LI Yu-Lin<sup>2</sup>, KWAK Sang-Soo<sup>4</sup>, DENG Xi-Ping<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Life Sciences, <sup>2</sup>State Key Laboratory of Soil Erosion and Dry Land Farming on the Loess Plateau, Institute of Soil and Water Conservation, <sup>3</sup>College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; <sup>4</sup>Plant Systems Engineering Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea

**Abstract:** Transgenic sweet potato (TS) overexpressing *IbMYB1* and non-transgenic (NT) were employed as experimental material, and chose survival seedlings in pots with drought stress condition. Response of lipid peroxidation and antioxidative system during drought stress in TS and NT were investigated. The results indicated that anthocyanin contents of TS increased obviously, the biggest anthocyanin content in storage roots of TS was seven times to control. Chlorophyll contents in TS and NT plants decreased during drought stress, while, O<sub>2</sub><sup>-</sup> and malondialdehyde (MDA) contents in TS and NT were increased, and the increase rate of TS was significantly lower than NT. The activities of SOD, CAT and APX in TS were obviously higher than those in NT plants. It was concluded that overexpression of *IbMYB1* gene could reduce damage degree of sweet potato under the condition of drought stress.

**Key words:** transgenic sweet potato; drought stress; antioxidative system; anthocyanin

正常条件下, 植物细胞中产生的活性氧与其清除系统保持平衡, 而当环境胁迫长期作用于植株, 产生的活性氧超出了清除系统的能力时, 就会引起活性氧累积产生氧化伤害, 从而使植物细胞功能失常, 机体出现各种自由基综合症。植物体在长期进化过程中也相应地形成了酶促和非酶促两大类保护系统, 酶促保护系统包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽硫转移酶等, 非酶促系统主要包括一些抗氧化剂如抗坏血酸(Vc)、类胡萝卜素(Car)、花青素(anthocyanins)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)等, 它们的协调作用赋予植物体以清除

活性氧的能力, 减轻或避免活性氧对细胞造成伤害, 从而表现出对氧化胁迫的抗性。

甘薯富含次生代谢产物, 尤其是抗氧化化合物包括花青素、类胡萝卜素和维生素C (Yoshinaga等1999)。紫色薯肉甘薯品种富含花青素, 花青素是黄酮类水溶性次级代谢产物, 调控花、果实、

收稿 2015-05-13 修定 2015-08-03

资助 国家重点基础研究发展计划(2015CB150402)、国家自然科学基金(51479189)和西北农林科技大学科技创新专项(Z109021304)。

\* 通讯作者(E-mail: lhb\_7381@nwsuaf.edu.cn; Tel: 029-87012884)。

蔬菜颜色。Tsuda等(1994, 1996)在关于亚油酸氧化系统、脂质体系统、兔血红细胞膜体系统和鼠肝粗粒体系统的试验中,发现外源花青素能够清除活性氧自由基并且抑制脂质过氧化反应,它与 $\alpha$ -生育酚有着相同的活性甚至活性更强。花青素及其相关化合物如原花青素,能够保护植物叶片抵御如强光、干旱、低温等环境胁迫的影响(Chalker-Scott 1999; Gould 2004),同时也能帮助植物抵御虫害(Harborne 2009)。

黄酮类生物合成途径主要在转录水平调控(Quattrocchio等2007; Taylor和Grotewold 2005)。MYB转录因子对不同的次级代谢产物转录调控起重要作用。植物MYB转录因子根据DNA结合域分为3组:只有1个重复区域的MYB1R、有2个重复区域的R2R3-MYB和有3个重复区域的R1R2R3-MYB (Jin和Martin 1999; Rosinski和Atchley 1998)。其中R2R3-MYB基因是植物中最大的MYB基因家族(Stracke等2001),与花青素合成的关系紧密,包括玉米中的*C1* (Paz-Ares等1987)和*PI* (Grotewold等1991)、矮牵牛花青素(*AN2*) (Quattrocchio等1999)、拟南芥花青素生成色素(*PAP1*) (*AtMYB75*和*At1g56650*)和*PAP2* (*AtMYB90*和*At1g66390*) (Borevitz等2000)以及葡萄树*VvMYB5a* (Deluc等2006)和甘薯*IbMYB1* (Mano等2007),负责调控花青素生物合成基因,增强植物花青素积累。

在我国粮食作物中,甘薯种植面积仅次于水稻、小麦和玉米,居第4位。然而,在水分亏缺条件下,甘薯的生长发育和产量会受到影响。干旱胁迫能诱导过量活性氧的产生(Jiang和Zhang 2002),导致植物体内活性氧积累,从而对植物的细胞结构和生理代谢产生严重的危害,进而使植物遭受生理损害。本实验通过室内盆栽实验研究土壤干旱胁迫下,过表达*IbMYB1*基因甘薯是否通过提高抗氧化能力从而增加对于干旱胁迫的抗性。

## 材料与方 法

### 1 试验材料

供试材料甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 橙色肉质品种‘Sinhuangmi’ (缩写为SHM)及过表达*IbMYB1*基因的2个株系(MYB2和MYB14)由韩国生命工 学研究院提供,其中转基因株系由在甘薯储

藏根中特异性表达的启动子——甘薯储藏蛋白基因启动子Sporamin (SPO)与植物表达载体pCAMBIA 2300构建得到SPO-pCAMBIA 2300-IbMYB1,进而转化SHM获得。

### 2 土壤干旱处理及指标测定

从大田选取大小一致的健壮苗,移栽到内装砂土的塑料桶中,置于温室培养。桶底铺石子并用滤纸与砂土隔开,每桶装风干土12 kg,其含水量为1.64%,施硝酸钾11.37 g、尿素2.65 g、过磷酸钙8.93 g作为底肥,在每桶土壤表面覆盖50 g珍珠岩,防止土壤水分的蒸发。待幼苗成活后(移栽40 d后)开始设3个水分处理:充分供水,土壤含水量一直维持在田间持水量的80% (75%~85%);中度干旱,土壤含水量为田间持水量的60% (55%~65%);重度干旱,土壤含水量为田间持水量的40% (35%~45%)。试验采用称重的方法控制土壤含水量:即每天下午进行称重,补充消耗的水分,使其一直维持在该水分水平。

在胁迫后第30天分别取经干旱胁迫处理和对照组的甘薯叶片,检测相关生理生化指标。其中,采用pH示差法测定花青素含量,丙酮提取的方法测定叶绿素含量,硫代巴比妥酸法测定MDA含量(高俊凤2006),参照王爱国和罗广华(1990)的方法测定O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量,氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)的活性,紫外吸收法测定过氧化氢酶(CAT)活性(高俊凤2006),参考Nakano和Asad (1981)的方法测定抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性。

### 3 基因表达分析

取实验处理后的甘薯块根,切片后液氮中迅速研磨成粉末,运用TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit按照操作手册从甘薯块根中提取RNA,运用DNaseI (宝生物,大连,中国)去除痕量的基因组DNA污染。第一链cDNA的合成运用Invitrogen公司的Superscript反转录酶试剂盒按照操作手册来进行。基因特异性引物设计使用一套严格的标准,使其能够在普遍的反应条件下进行,由在线引物设计软件Primer 3 Web version 4.0.0 (<http://primer3.ut.ee/>)来设计完成。表1中列出了每对引物的序列及其代表的基因名称和NCBI登录号。

表1 实验中用于实时定量PCR分析的引物序列

Table 1 Gene specific primers used for quantitative RT-PCR analysis

基因名称	引物序列(5'→3')	NCBI登录号
IbMYB1	正向AACGTCGGACTTGCTAATGG 反向TCCCACCACTTCACATTGTC	AB444397.1
ADP-ribosylation factor (ARF)	正向CTTTGCCAAGAAGGAGATGC 反向TCTTGTCTGACCACCAACA	JX177359.1

Quatitative RT-PCR分析采用Bio-Rad公司的CFX-96实时定量PCR系统及其软件(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)在96孔板上进行, 20  $\mu$ L的PCR反应体系包括10  $\mu$ L 2 $\times$ SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq II, 每个引物1  $\mu$ L, 8  $\mu$ L的模板(反转录cDNA稀释20倍)。PCR按照如下循环参数进行: 95  $^{\circ}$ C 变性3 min; 然后95  $^{\circ}$ C 20 s, 58  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 20 s, 共40个循环。运用融解曲线分析(融解温度65~95  $^{\circ}$ C)判断引物二聚体和其他非特异扩增。每个样品3次重复以保证实验结果的可靠性。不同样品中, 每个基因的表达水平使用在根和叶片中均稳定表达的甘薯ADP-ribosylation factor (ARF) (Park等2015)做内参来均一化(表1)。平均值和标准误由3次重复计算而来。

#### 4 数据处理

各胁迫程度下转基因植株与未转基因植株之间、处理与对照之间的差异显著性分析采用SPSS 16.0软件来完成, 应用最小显著性差异法(LSD)进行单因素方差分析; Duncan多重对比分析, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。应用Sigmaplot 12.0软件对数据进行作图。

## 实验结果

### 1 土壤干旱对转基因甘薯花青素含量的影响

*IbMYB1*参与甘薯的紫色表型, 诱导所有花青素生物合成基因的表达, 从而增加甘薯花青素含量。多数植物可通过合成花青素来应对不同类型的非生物胁迫。如图1所示, 干旱胁迫后转基因甘薯叶片和薯块中的花青素含量都明显增加。干旱胁迫30 d后, 转基因甘薯叶片花青素显著增加, 重度和适度干旱的转基因甘薯叶片花青素含量都显著高于同等条件下非转基因甘薯叶片的花青素含量。收获的薯块中花青素含量差异更明显, 非转基因甘薯在干旱胁迫后花青素含量几乎不变, 转基因甘薯MYB2和MYB14的花青素含量在胁迫后显著高于充分供水条件下甘薯的花青素含量, 特别是MYB14株系的花青素含量在重度干旱胁迫下是充分供水时的7倍。

### 2 土壤干旱对转基因甘薯*IbMYB1*基因表达的影响

本实验所用的2个转基因株系MYB2和MYB14都是在甘薯根中特异性表达的甘薯储藏蛋白启动子SPO的驱动下表达*IbMYB1*基因而获得的,

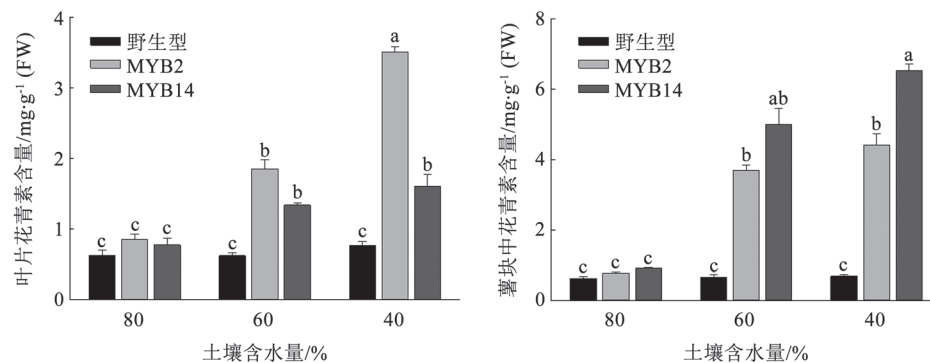


图1 干旱胁迫对甘薯花青素含量的影响

Fig.1 Effect of drought stress on anthocyanin content in sweet potato

各柱形上不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著, 下图同此。

因而*IbMYB1*基因主要在甘薯的储藏块根中表达, 我们也在甘薯的叶片和茎秆中检测到了*IbMYB1*基因的少量表达, 且在胁迫后表达量增加。图2表明*IbMYB1*基因主要在转基因株系的储藏根中正常表达, 而在对照SHM中该基因仅痕量表达; 在土壤干旱的情况下, *IbMYB1*基因在甘薯块根中的表达增加, 在中度干旱胁迫一段时间后, 转基因株系中*IbMYB1*基因的表达量有所上调, 但与正常供水情况下的表达量相比, 并无显著差异; 而在重度干旱胁迫一段时间后, *IbMYB1*基因在MYB14株系中的表达量显著高于正常供水情况下的表达量(图2)。

正是由于*IbMYB1*基因在甘薯储藏块根中的表达促进了花青素合成相关基因的表达, 使得甘薯块根中积累了远远高于对照的花青素, 使得转基因株系块根的颜色由对照SHM的橙色转变为紫色(图3), 从而大大提高了甘薯块根中非酶促抗氧化剂的水平, 增加了甘薯的抗氧化能力。

### 3 土壤干旱对转基因甘薯叶绿素含量的影响

在受到干旱胁迫时, 植物的叶绿体受损, 叶绿体片层结构受到破坏, 叶绿素含量显著降低, 从而影响植物的光合作用。在转基因甘薯株系和未转

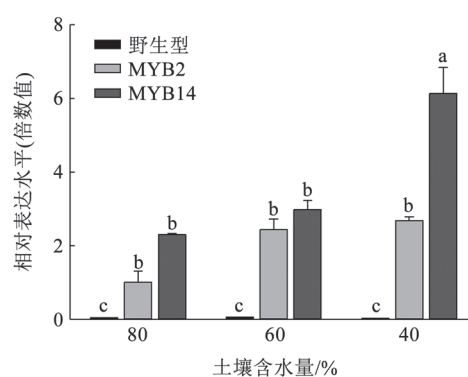


图2 干旱胁迫对甘薯块根中*IbMYB1*基因表达的影响  
Fig.2 Effect of drought stress on *IbMYB1* gene expression of storage root in sweet potato

基因甘薯叶片中叶绿素*a*和叶绿素*b*的含量结果如图4所示。在干旱胁迫后2种甘薯叶片中叶绿素*a*和叶绿素*b*含量都降低, 中度干旱胁迫对叶绿素的影响要小于重度干旱胁迫, 中度干旱胁迫30 d后, 转基因甘薯株系MYB2叶绿素含量显著高于未转基因甘薯; 重度干旱胁迫条件下, 转基因株系和非转基因甘薯叶片中叶绿素含量均显著低于正常供水条件下叶片中的叶绿素含量(MYB2的叶绿素*a*



图3 *IbMYB1*基因表达对甘薯叶片和块根的影响

Fig.3 Effect of *IbMYB1* gene expression on storage root and leaf in sweet potato

野生型: 橙色肉质甘薯品种'Sinhuangmi'; MYB2和MYB14: SPO启动子驱动转*IbMYB1*基因2个株系。

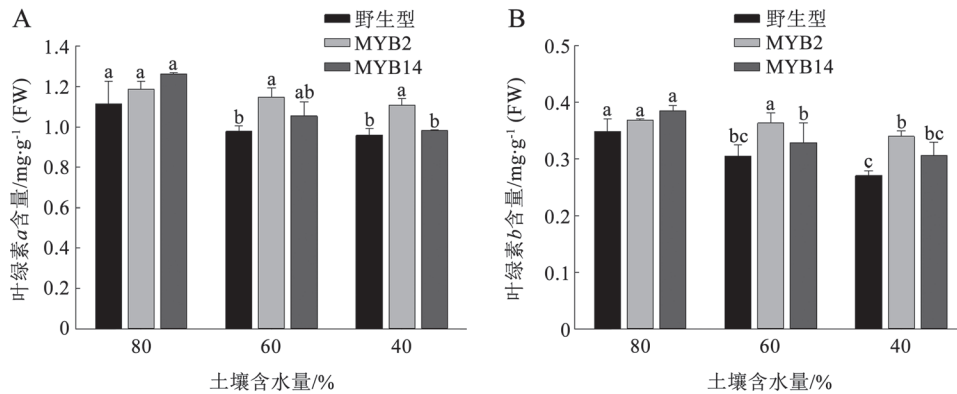


图4 干旱胁迫对甘薯叶片叶绿素含量的影响

Fig.4 Effect of drought stress on chlorophyll content of leaf in sweet potato

含量无显著差异)。重度干旱胁迫30 d后,转基因甘薯株系叶绿素**b**含量显著高于未转基因甘薯(MYB14株系不显著),而叶绿素**a**的差别相对较小,只有转基因株系MYB2显著高于未转基因甘薯,MYB14并不显著。无论中度和重度干旱胁迫,转基因甘薯叶片中叶绿素含量始终高于未转基因甘薯,表明转基因株系在干旱胁迫条件下更好的保护了光合器官,因而具有更好的干旱胁迫耐受能力。

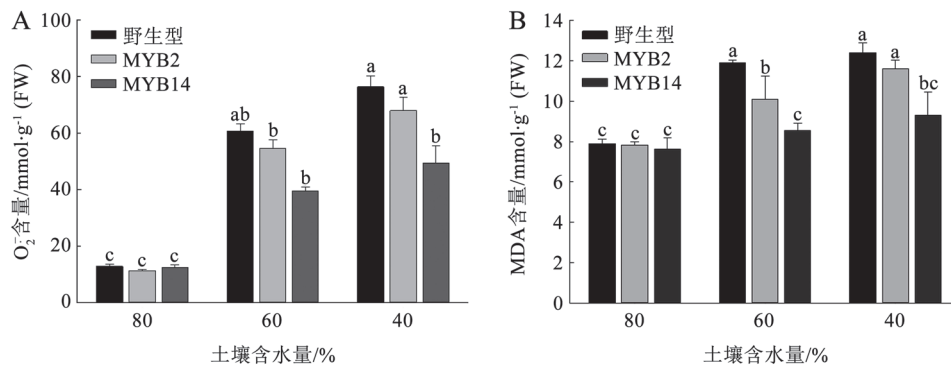
#### 4 土壤干旱对转基因甘薯叶片 $O_2^{\cdot-}$ 和MDA含量的影响

在逆境条件下,植物体内超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )含量增加,大量积累会对细胞产生氧化伤害。如图5-A所示,在干旱胁迫30 d后 $O_2^{\cdot-}$ 含量大幅上升,显著高于正常水分条件, $O_2^{\cdot-}$ 含量在重度干旱胁迫后高于中度干旱胁迫;中度胁迫30 d后转基因甘薯叶片中 $O_2^{\cdot-}$ 含量低于未转基因甘薯,但未达显著水平;重度胁迫30 d后转基因甘薯株系MYB14叶片中 $O_2^{\cdot-}$

含量显著低于未转基因甘薯,而转基因株系MYB2则并不显著。丙二醛(MDA)是膜脂氧化的最终产物,其含量反映植物细胞受环境胁迫等伤害的程度。由图5-B可知,与 $O_2^{\cdot-}$ 变化类似,在正常供水条件下,转基因和未转基因甘薯MDA含量无明显差异,干旱胁迫后MDA含量都增加,但转基因甘薯增加幅度较低,在中度胁迫30 d后,转基因甘薯株系MDA含量均显著低于未转基因甘薯,重度胁迫30 d后,转基因甘薯株系MYB14的MDA含量显著低于未转基因甘薯,但转基因甘薯株系MYB2并不显著。

#### 5 土壤干旱对转基因甘薯SOD、CAT和APX活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是抵御活性氧伤害的第一道防线,它可以将 $O_2^{\cdot-}$ 歧化为 $H_2O_2$ 。图6-A表明,充分供水条件下,转基因甘薯SOD活性显著高于未转基因甘薯,土壤干旱胁迫30 d后,转基因和

图5 干旱胁迫对甘薯叶片 $O_2^{\cdot-}$ 和MDA含量的影响Fig.5 Effect of drought stress on  $O_2^{\cdot-}$  and MDA contents of leaf in sweet potato

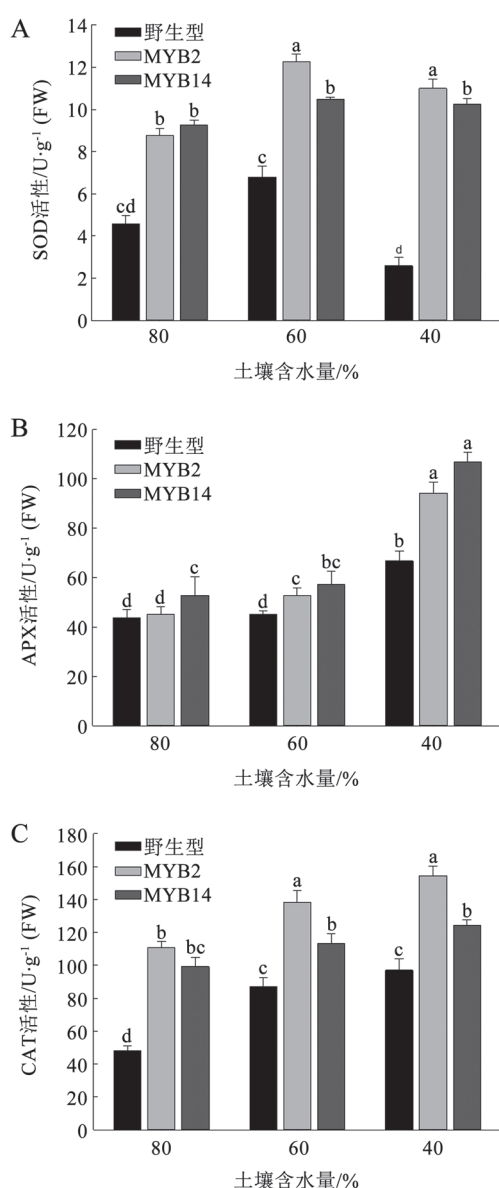


图6 干旱胁迫对甘薯叶片抗氧化酶活性的影响  
Fig.6 Effect of drought stress on activity of antioxidant enzymes in sweet potato

未转基因甘薯SOD活性均有所增加,然而,相比于中度胁迫,重度胁迫下SOD活性反而呈下降趋势,这可能与重度胁迫后植物的代谢机能降低有关。

抗坏血酸过氧化物酶(APX)作为抗坏血酸-谷胱甘肽循环途径的主要物质,在H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的清除过程中起着重要作用。由图6-B可知,中度土壤干旱胁迫30 d后,转基因和未转基因甘薯APX活性均有所增加,然而,转基因甘薯的增加幅度显著高于未转基因甘薯;重度土壤干旱胁迫30 d后,转基因和未转基因甘薯APX活性显著增加,未转基因甘薯

APX活性提高约0.5倍,而转基因甘薯APX活性提高1倍。

过氧化氢酶(CAT)可以有效地清除过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),图6-C表明,干旱胁迫30 d后,转基因和未转基因甘薯CAT活性均呈增加趋势,无论是在中度或重度干旱胁迫处理后,转基因甘薯叶片中CAT活性始终显著高于未转基因甘薯,其中CAT活性在重度干旱胁迫条件下要高于中度干旱胁迫。

## 讨 论

R2R3-MYB类转录因子在应对非生物胁迫方面发挥重要作用,例如,AtMYB15增强了转基因植物对盐和干旱胁迫的耐受性(Ding等2009)。本研究中,超表达*IbMYB1*基因甘薯在干旱胁迫后叶片和薯块中花青素含量显著增加。花青素是一类非酶促抗氧化剂,具有抗氧化功能(Igarashi等1989);另有研究证明,花青素可以保护植物的叶绿体,避免强光造成的光抑制现象(Pietrini等2002)。我们的实验结果显示:干旱胁迫后转基因甘薯叶绿素含量始终高于未转基因甘薯,表明较高的花青素含量有利于保护叶片中的叶绿体结构,减少损伤,使其维持相对较高的叶绿素水平。在干旱胁迫后甘薯叶片中O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量大幅上升,但转基因甘薯的O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量始终低于未转基因甘薯,另外,植物细胞内大量积累活性氧会诱发膜脂过氧化反应,产生MDA,与O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量相对应,干旱胁迫后转基因甘薯的MDA含量增加幅度较小,低于未转基因甘薯。花青素具有自由基清除能力(Chen等2005),表明转基因甘薯中存在较多的花青素,能够及时清除活性氧,从而减少MDA的含量,赋予植物较强的抗氧化能力。转基因甘薯叶片和薯块中积累较多的花青素是其在干旱胁迫后具有较低的活性氧和MDA含量的生理基础之一。

植物在受到非生物胁迫后还可以通过抗氧化酶防御系统来保护自身免受伤害。抗氧化酶防御系统是通过综合调节各抗氧化酶的活性来清除细胞内积累的过量活性氧,对植物细胞起到保护作用。有研究表明,R2R3-MYB类转录因子基因可提高植株对盐和干旱等非生物胁迫的耐受性,可能参与活性氧清除并且提高活性氧清除酶活性(Liu等2011; Qin等2012)。本试验中,超表达*IbMYB1*基因甘薯在受到干旱胁迫后SOD、CAT和APX活性

都增加, 重度干旱胁迫后酶活性增加幅度较大, 且都高于未转基因甘薯酶活性, 表明超表达*IbMYB1*基因甘薯可通过提高抗氧化酶活性来提高甘薯对干旱胁迫的耐受性。即超表达*IbMYB1*基因甘薯具有更高的抗氧化酶活性是其抗氧化能力提高的另一生理基础。

另外, 在干旱胁迫后, 超表达*IbMYB1*基因甘薯叶片和薯块中的花青素含量均显著高于未转基因甘薯, 尤其是在重度干旱胁迫后转基因甘薯株系薯块中花青素含量最高为未转基因甘薯的7倍, 说明植物可通过调节非酶促抗氧化系统来抵挡伤害, 而且花青素发挥了很大的作用。

### 参考文献

- 高俊凤主编(2006). 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 101~204
- 王爱国, 罗广华(1990). 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系. 植物生理学通讯, 26 (6): 55~57
- Borevitz J, Xia Y, Blount J, Dixon R, Lamb C (2000). Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Cell*, 12 (12): 2383~2393
- Chalker-Scott L (1999). Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochem Photobiol*, 70 (1): 1~9
- Chen PN, Chu SC, Chiou HL, Chiang CL, Yang SF, Hsieh YS (2005). Cyanidin 3-glucoside and peonidin 3-glucoside inhibit tumor cell growth and induce apoptosis *in vitro* and suppress tumor growth *in vivo*. *Nutr Cancer*, 53 (2): 232~243
- Deluc L, Barrieu F, Marchive C, Lauvergeat V, Decendit A, Richard T, Carde J, Merillon J, Hamdi S (2006). Characterization of a grapevine R2R3-MYB transcription factor that regulates the phenylpropanoid pathway. *Plant Physiol*, 140 (2): 499~511
- Ding ZH, Li SM, An XL, Liu X, Qin HJ, Wang DW (2009). Transgenic expression of *MYB15* confers enhanced sensitivity to abscisic acid and improved drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *J Genet Genomics*, 36: 17~29
- Gould K (2004). Nature's Swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *J Biomed Biotechnol*, 5: 314~320
- Grotewold E, Athma P, Peterson T (1991). Alternatively spliced products of the maize *P* gene encode proteins with homology to the DNA-binding domain of *myb*-like transcription factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88 (11): 4587~4596
- Harborne JB (2009). Plant secondary metabolism. In: Crawley MJ (ed). *Plant Ecology* (2nd ed). Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 132~155
- Igarashi K, Takanashi K, Makino M, Yasui T (1989). Antioxidative activity of major anthocyanin isolated from wild grapes. *Vitis Coignetiae*, 36 (10): 852~856
- Jiang MY, Zhang JH (2002). Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *J Exp Bot*, 53 (379): 2401~2410
- Jin H, Martin C (1999). Multifunctionality and diversity within the plant *MYB*-gene family. *Plant Mol Biol*, 41 (5): 577~585
- Liu HX, Zhou XY, Dong N, Liu X, Zhang HY, Zhang ZY (2011). Expression of a wheat MYB gene in transgenic tobacco enhances resistance to *Ralstonia solanacearum*, and to drought and salt stresses. *Funct Integr Genomics*, 11 (3): 431~443
- Mano H, Ogasawara F, Sato K, Higo H, Minobe Y (2007). Isolation of a regulatory gene of anthocyanin biosynthesis in tuberous roots of purple-fleshed sweet potato. *Plant Physiol*, 143 (3): 1252~1263
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22: 867~880
- Park SC, Kim YH, Kim SH, Jeong YJ, Kim CY, Lee JS, Bae JY, Ahn MJ, Jeong JC, Lee HS, Kwak SS (2015). Overexpression of the *IbMYB1* gene in an orange-fleshed sweet potato cultivar produces a dual-pigmented transgenic sweet potato with improved antioxidant activity. *Physiol Plant*, 153 (4): 525~537
- Paz-Ares J, Ghosal D, Wienand U, Peterson P, Saedler H (1987). The regulatory *c1* locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to *myb* proto-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators. *EMBO J*, 6 (12): 3553~3558
- Pietrini F, Iannelli MA, Massacci A (2002). Anthocyanin accumulation in the illuminated surface of maize leaves enhances protection from photo-inhibitory risks at low temperature, without further limitation to photosynthesis. *Plant Cell Environ*, 25 (10): 1251~1259
- Qin YX, Wang MC, Tian YC, He WX, Han L, Xia GM (2012). Over-expression of TaMYB33 encoding a novel wheat MYB transcription factor increases salt and drought tolerance in *Arabidopsis*. *Mol Biol Rep*, 39 (6): 7183~7192
- Quattrocchio F, Baudry A, Lepiniec L, Grotewold E (2007). The regulation of flavonoid biosynthesis (chapter 4). In: Grotewold E (ed). *The Science of Flavonoids* (3rd ed). New York: Springer, 97~122
- Quattrocchio F, Wing J, van der Woude K, Souer E, de Vetten N, Mol J, Koes R (1999). Molecular analysis of the *anthocyanin2* gene of petunia and its role in the evolution of flower color. *Plant Cell*, 11 (8): 1433~1439
- Rosinski JA, Atchley WR (1998). Molecular evolution of the Myb family of transcription factors: evidence for polyphyletic origin. *J Mol Evol*, 46: 74~83
- Stracke R, Werber M, Weisshaar B (2001). The *R2R3-MYB* gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Opin Plant Biol*, 4 (5): 447~456
- Taylor LP, Grotewold E (2005). Flavonoids as developmental regulators. *Curr Opin Plant Biol*, 8: 317~323
- Tsuda T, Shiga K, Ohshima K, Kawakishi S, Osawa T (1996). Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochem Pharmacol*, 52 (7): 1033~1039
- Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, Norinobu S, Choi S, Kawakishi S, Osawa T (1994). Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O- $\beta$ -D-glucoside and cyanidin. *J Agric Food Chem*, 42 (11): 2407~2410
- Yoshinaga M, Yamakawa O, Nakatani M (1999). Genotypic diversity of anthocyanins content and composition in purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Breeding Sci*, 49 (1): 43~47