

紫粒小麦花青素合成分子调控机制研究进展

李小兰^{1,3}, 张明生^{1,3,*}, 任明见^{2,4}, 吕享^{1,3}, 吉宁^{1,3}, 王晓红^{1,3}, 徐如宏²

贵州大学¹生命科学学院, ²农学院, ³山地植物资源保护与种质创新省部共建教育部重点实验室, ⁴国家小麦改良中心贵州分中心, 贵阳550025

摘要: 紫粒小麦是一类果皮和种皮积累紫色花青素的小麦种质资源, 除籽粒具有花青素外, 有些品种的胚芽鞘、茎、叶片、叶鞘、叶耳、花药等部位也含有花青素而呈现紫色或红色。本文从控制小麦各器官的紫色或红色性状基因定位、编码的蛋白质及其功能、花青素合成结构基因定位及其表达特性, 以及这些基因与环境因子如光照、非生物逆境的关系等方面, 综述了紫粒小麦花青素合成分子调控的初步机制, 并勾画了相应的调控模式图, 以期为进一步揭示该机制提供理论基础。

关键词: 紫粒小麦; 花青素; 基因定位; 分子调控机制; 非生物逆境

花青素(anthocyanin)是植物次生代谢产物, 属于黄酮类水溶性天然色素, 使植物花、果实、种皮等器官呈现红、蓝、紫等颜色, 并具有多种生理功能: 对植物自身而言, 能吸引昆虫传粉、防止植物受紫外辐射、保护DNA不受破坏、使细胞分化、抵御低温、防止病害并使生命过程正常进行等; 对人类健康而言, 具有抗氧化、抗突变、预防心脑血管疾病、保护肝脏、抑制肿瘤细胞发生和转移等(Hu等2007; Neilson等2013; 韩彬等2013; 王华等2015)。

植物花青素合成属于类黄酮合成途径, 该途径中主要合成酶包括查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)、查尔酮异构酶(chalcone isomerase, CHI)、黄烷酮-3-羟化酶(flavanone-3-hydroxylase, F3H)、二氢黄酮醇-4-还原酶(dihydroflavonol-4-reductase, DFR)、花青素合成酶/无色花青素双加氧酶(anthocyanidin synthase/leucoanthocyanidin dioxygenase, ANS/LDOX)、尿苷二磷酸葡萄糖-类黄酮葡萄糖基转移酶(uridine diphosphate glucose-flavonoid glucosyl transferase, UFGT)等(宫硖等2011; 许志茹等2008; 李小兰等2016), 编码这些酶的基因是合成花青素的结构基因, 其中, 早期合成基因(early biosynthesis genes, EBGs)包括CHS、CHI和F3H, 而晚期合成基因(late biosynthesis genes, LBGs)包括DFR、ANS和UFGT (Ahmed等2006)。这些结构基因的表达主要受植物的发育状况、转录因子和环境因子等因素调控(Jaakola 2013)。

紫粒小麦(*Triticum aestivum*)是一类籽粒种皮和果皮富含花青素呈现紫色的小麦(袁文业和孙善澄1993; Zeven 1991), 其蛋白质、多酚氧化酶和对人体有益的各种微量元素钙、铁、锌、硒等含量

也显著高于普通小麦(唐晓珍2008)。此外, 许多紫粒小麦品种除籽粒可以积累花青素, 其他器官如胚芽鞘、茎、叶片、叶鞘、叶耳、花药等也含有花青素而呈现紫色或红色(Khlestkina等2002, 2014; Tereshchenko等2012b)。因此, 紫粒小麦花青素合成的分子机制研究, 除有助于开发具有保健价值的食品、提取天然色素和选育优良小麦品种外, 也有助于将其植株开发成动物功能饲料并提升畜禽肉品质等, 对人类健康事业的发展具有重要意义。本文综述该机制以期对紫粒小麦良种选育和营养价值提升提供理论依据。

1 控制小麦色素性状的基因是花青素合成的调控基因

研究发现, 控制紫粒小麦各器官积累花青素性状的基因不同, 控制紫色果皮的为*Pp* (purple pericarp)基因, 红色胚芽鞘为*Rc* (red coleoptile)基因, 紫色茎为*Pc* (purple culm)基因, 紫色叶片为*Plb* (purple leaf blade)基因, 紫色叶鞘为*Pls* (purple leaf sheath)基因, 红色叶耳为*Ra* (red auricle)基因, 紫色花药为*Pan* (purple anther)基因(Khlestkina等2002, 2014; Tereshchenko等2012a), 初步确定它们均属于编码紫粒小麦花青素合成途径中的调控基因, 且每种决定性状的基因在不同染色体组的不同染色体上具有多个拷贝基因(Khlestkina等2015) (表1),

收稿 2017-02-13 修定 2017-03-29

资助 国家自然科学基金(31660390)、国家重点研发计划(2016-YFC0502604)、贵州省科技创新人才团队建设专项资金(黔科合平台人才[2016] 5624)、贵州省教育厅创新群体重大项目(黔教合KY字[2016] 023)、贵州省高层次创新型人才培养计划(黔科合人才[2015] 4031)和贵州省科技计划项目(黔科合成果[2016] 4022)。

* 通讯作者(E-mail: mszhang@gzu.edu.cn)。

表1 小麦色素性状基因的基因组及染色体定位

Table 1 Genomic and chromosomal localization of the genes responsible for wheat coloration traits

| 性状 | A基因组 | B或S基因组 | D基因组 |
|-------------|---|---|---------------------------------------|
| 红色籽粒 | <i>R-A1</i> (3A) ^{Ta, Td} | <i>R-B1</i> (3B) ^{Ta, Td} | <i>R-D1</i> (3D) ^{Ta, At} |
| 红色、黑色及烟熏灰颖片 | <i>Rg-A1</i> (1A) ^{Ta, Td, Tt, Tm} | <i>Rg-B1</i> (1B) ^{Ta, Td} | <i>Rg-D1</i> (1D) ^{Ta, At} |
| 红色或黑色芒 | <i>QRaw.ipk-1A</i> (1A) ^{Td} 和 <i>Blal</i> (1A) ^{Td} | <i>QRaw.ipk-1B</i> (1B) ^{Td} | <i>QRaw.ipk-1D</i> (1D) ^{At} |
| 红色胚芽鞘 | <i>Rc-A1</i> (7A) ^{Ta, Td, Tb} | <i>Rc-B1</i> (7B) ^{Ta, Td} 和 <i>Rc-S1</i> (7S) ^{As} | <i>Rc-D1</i> (7D) ^{Ta, At} |
| 紫色茎 | <i>Pc-A1</i> (7A) ^{Ta} | <i>Pc-B1</i> (7B) ^{Ta, Td} 和 <i>Pc-S1</i> (7S) ^{As} | <i>Pc-D1</i> (7D) ^{Ta} |
| 紫色花药 | <i>Pan-A1</i> (7A) ^{Td} | <i>Pan-S1</i> (7S) ^{As} | <i>Pan-D1</i> (7D) ^{Ta} |
| 紫色叶片 | <i>Plb-A1</i> (7A) ^{Ta} | <i>Plb-B1</i> (7B) ^{Ta, Td} 和 <i>Plb-S1</i> (7S) ^{As} | <i>Plb-D1</i> (7D) ^{Ta} |
| 紫色叶鞘 | <i>Pls-A1</i> (7A) ^{Ta} | <i>Pls-B1</i> (7B) ^{Ta, Td} 和 <i>Pls-S1</i> (7S) ^{As} | <i>Pls-D1</i> (7D) ^{Ta} |
| 紫色果皮 | <i>Pp-A1</i> (7A) ^{Ta} 和 <i>Pp3</i> (2A) ^{Ta, Td, Tt} | <i>Pp-B1</i> (7B) ^{Td} 和 <i>Pp-S1</i> (7S) ^{As} | <i>Pp-D1</i> (7D) ^{Ta} |
| 紫色颖片 | <i>Pg</i> (2A) ^{Td} | — | — |
| 红色叶耳 | — | <i>Ra2</i> (4B) ^{Ta} 和 <i>Ra3</i> (6B) ^{Ta} | <i>Ra-D1</i> (7D) ^{Ta} |
| 蓝色糊粉层 | <i>Ba</i> (4A) ^{Tb} | — | — |

引自Khlestkina等(2015)文献。括号内标注的是染色体定位。Ta: 普通小麦(*T. aestivum*); Tb: 野生一粒小麦(*T. boeoticum*); Td: 硬质小麦(*T. durum*); Tm: 单粒小麦(*T. monococcum*); Tt: 提莫菲维小麦(*T. timopheevii*); Tu: 乌拉尔图小麦(*T. urartu*); As: 拟斯卑尔脱山羊草(*Aegilops speltoides*); At: 粗山羊草(*A. tauschii*)。

其中部分同源拷贝基因编码功能相似的蛋白, 旁系拷贝基因编码功能可能不同的蛋白, 如紫粒果皮性状由*Pp-1*和*Pp3*基因控制, *Pp3*位于2A染色体, *Pp-A1*位于7A染色体, *Pp-D1*位于7D染色体, *Pp-A1*效果较弱, 而且*Pp*基因上调*CHI*和*F3H*的转录水平(Gordeeva等2015; Shoeva等2014a; Li等2010)。这些基因可能编码成髓细胞血症家族蛋白(myeloblastosis, MYB)和MYC-like类[含碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)结构域]转录因子, 但具体编码哪些转录因子尚不清晰。

1.1 MYB类转录因子

通过同源序列比对发现, 决定小麦色素性状的基因*Plb-1*、*Pls-1*、*Pc-1*、*Rc-1*、*Pp-1*、*Ra-1*、*Pan-1*可能编码R2R3-MYB转录因子来调控花青素的合成(Khlestkina等2009a, 2010, 2014; Tereshchenko等2012a)。转录组分析发现, 紫粒小麦品种Gy115紫色果皮中位于7B染色体长臂上的3个MYB基因可能是确定紫粒性状的候选基因(Liu等2016)。Rc基因可能的候选基因*TaC1*和*TaPL1*均编码R2R3-MYB类转录因子, *TaC1*基因序列的差异性与红色胚芽鞘表型相吻合, 而*TaPL1*在小麦胚芽鞘中优先表达, 正调控胚芽鞘花青素合成, 且在胚芽鞘中的表达水平高于繁殖器官(如麦穗), 低温、盐、光都能显著诱导其上调(Himi和Taketa 2015; Shin等2016a), 说明小麦花青素合成的调控基因能够响应非生物胁迫。

1.2 MYC-like转录因子

MYC-like转录因子具有bHLH结构域, 主要识别DNA序列, 可能与MYB类转录因子互作并调控结构基因的表达。*Pp3*可能的候选基因*TaMyc1*编码MYC-like调控因子, 在有色组织中活性增强, 在籽粒果皮中表达水平最高。*TaMyc1*基因与*Pp3*基因共存并决定籽粒果皮的花青素积累, 而显性等位基因*Pp-D1*抑制*TaMyc1*的转录(Shoeva等2014a)。小麦籽粒果皮的花青素合成需要*Pp-D1*和*Pp3*基因产物的互补作用(Tereshchenko等2012a), 说明小麦紫粒性状是由2个基因共同控制的。此外, 在六倍体小麦中发现MYC基因有5个拷贝, 但只有1个拷贝与MYB-like转录因子结合发挥花青素合成调控作用使小麦果皮沉积紫色素, 其他4个拷贝的功能未知(Khlestkina和Tereshchenko 2012)。紫粒小麦品种Gy115紫色果皮中也发现了位于2A染色体长臂上的3个MYC基因可能是确定紫粒性状的候选基因(Liu等2016)。

可以看出, 小麦花青素合成调控基因之间存在相互作用, 编码MYB转录因子的基因可能某种程度上抑制编码MYC的基因活性, 但两者编码的蛋白质又需要互作来发挥调控功能。此外, 从Rc候选基因的表达特性可知, MYB类调控基因可能受逆境胁迫而表达上调。然而, Rc基因除了编码MYB类转录因子之外, 是否还编码bHLH类转录因

子以及编码bHLH转录因子的调控基因表达是否响应逆境胁迫等均不清楚。

在其他植物中, 调控花青素合成基因编码的转录因子包括MYB、bHLH、WD40 (Trp-Asp-repeat protein, 色氨酸-天冬氨酸重复蛋白) 3种类型。在双子叶植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, 调控EBGs的主要是MYB类转录因子, 而调控LBGs的主要是MYB-bHLH-WD40复合体; 在单子叶植物玉米(*Zea mays*)中, 调控EBGs和LBGs的都是MYB-bHLH-WD40复合体(Petroni和Tonelli 2011; 闵元琴等2010)。而小麦中还未发现编码WD40类转录因子的基因调控花青素的合成(Khlestkina等2015), 说明单子叶植物不同物种调控花青素合成的转录因子类型及组合方式可能不同。

2 紫粒小麦花青素合成的结构基因

紫粒小麦花青素合成的结构基因*CHI*、*CHS*、*F3H*、*DFR*、*ANS*等都具有多个拷贝位于不同染色体(Khlestkina等2015), 如*DFR*基因有3个拷贝, 分别位于3A、3B、3D的长臂上(Himi和Noda 2004; Munkvold等2004)。结构基因的表达具有组织特异性, 而且响应逆境胁迫。

2.1 结构基因可能在花青素沉积之前开始表达

在花青素沉积之前*CHS*基因就开始表达并影响花青素的沉积。在色素沉积5 d前*CHS*就开始转录, 但比预想的要早结束, 而且矢车菊素-3-糖苷(cyanidin-3-glucoside)与花翠素-3-糖苷(delphinidin-3-glucoside)的积累量也是按相似的方式增加(Trojan等2014)。但在不同颜色玉米籽粒中, *CHS*在籽粒发育的不同时期的表达均无明显变化, 而*DFR*等基因会在授粉后即花青素开始逐渐积累的时期明显上调(亓燕红2011), 说明不同的禾本科植物花青素合成结构基因的表达时期存在差异。

2.2 结构基因在小麦各组织中特异表达

结构基因的各拷贝基因在小麦组织中的表达可能不同。*F3H*有4个拷贝基因, *F3H-A1*、*F3H-B1*和*F3H-D1*结构与功能都非常相似, 在积累花青素的小麦组织或胚乳中表达, 参与无色黄酮类物质的合成, 而第4个拷贝*F3H-B2*仅在铝胁迫下根中表达, *F3H-1*和*F3H-2*外显子序列十分相似, 但启动子区在结构上差异较大, 这可能是两者在小麦不同组织中特异表达的原因(Khlestkina等2008; Himi等

2011; Shoeva和Khlestkina 2013; Khlestkina和Tereshchenko 2012), 推测结构基因的多个拷贝基因之间若存在序列差异会导致其表达水平不同。

在有色和无色的小麦组织中结构基因表达水平不同。在对小麦根、胚芽鞘、茎、叶鞘、叶片和果皮的花青素合成结构基因表达水平的分析中, 发现*CHS*、*CHI*、*DFR*和*ANS*在有色与无色组织中均能表达, 而*F3H*只在有色组织中表达, 说明控制*CHS*、*CHI*、*DFR*和*ANS*表达的体系与控制*F3H*的表达体系可能不同, *F3H*可能是花青素合成调控的关键因子(Tereshchenko等2013)。*DFR*在小麦白粒品系白色胚芽鞘中未被激活, 在红粒品系红色胚芽鞘中表达(Himi等2005)。*ANS*基因在普通小麦里至少有5个拷贝, 6A和6B染色体上各2个基因座, 6D染色体上1个基因座, 虽然还未分别对每个拷贝进行过分析, 但*ANS*基因在有色组织中转录水平升高(Tereshchenko等2013)。此外, 小麦栽培种Heimai 76中的*DFR*在种皮而不是在果皮中转录, 而花青素在两个组织中都积累(Liu等2005), 可推测种皮中的无色花青素经转运到果皮后才生成了有色花青素。

结构基因的组织表达特异性在其他植物中也类似。如可可(*Theobroma cacao*)、甘薯(*Ipomoea batatas*)、结缕草(*Zoysia japonica*)的*ANS*基因在各组织中的表达水平就存在差异, 表现出组织表达特异性(李小兰等2016)。

2.3 将结构基因引入其他植物引起花青素积累

小麦栽培种Iksan 370胚芽鞘中积累花青素, 从其幼苗中克隆的*TaDFR-1*引入拟南芥*dfr*突变体中, 转基因植物显著积累花青素(Shin等2016), 小麦栽培种Heimai 76的*TaDFR-A*在拟南芥中过表达会积累花青素(Liu等2005), 说明结构基因的表达不受物种限制。同样, 桑树*ANS*基因转拟南芥植株中也出现了类似情况(亓希武等2013)。

2.4 结构基因的表达响应逆境胁迫

结构基因响应多种非生物胁迫。在低温、高盐、高糖和UV-B照射下, Iksan 370幼苗中*TaDFR*的转录水平高(Shin等2016b), 而且*DFR*等位基因启动子区突变与收获前的种子萌发抗性(pre-harvest sprouting, PHS)相关(Bi等2014)。干旱胁迫下, 小麦叶片中*TaCHS*、*TaCHI*、*TaF3H*、*TaDFR*、

*TaANS*等表达水平上调,花青素含量增高,植株具有更强的抗旱能力,但不同的栽培品种之间又具有差异,可能各品种中类黄酮途径响应干旱的机制不同(Ma等2014)。在NaCl和H₂O₂的处理下,小麦根部*CHS*、*CHI*、*DFR*、*ANS*的表达量都发生了变化,且不同的品种之间这种表达差异不同(李伟2011)。较低浓度的NaCl (100 mmol·L⁻¹)处理小麦幼苗,胚芽鞘中*CHI-1*和*F3H-1*转录产物6 d后显著增加,说明花青素合成结构基因表达对盐胁迫的应答具有一定的滞后性,较高浓度的NaCl (200 mmol·L⁻¹)处理,使*CHI-1*和*F3H-1*转录水平平均比对照低,说明高浓度的盐处理会抑制花青素合成结构基因的表达(Shoeva和Khlestkina 2015)。*CHI-1*特异响应逆境,*CHI-D1*在根中表达以响应高盐胁迫,而*CHI-A1*只适度激活,*CHI-B1*根本不表达(Shoeva等2014b),说明结构基因的各拷贝基因响应非生物胁迫的能力不同。还有研究显示,*DFR*和*ANS*可能作为调控蛋白参与启动多条途径来抵消多种胁迫(Van den Ende和EI-Esawe 2014)。

结构基因响应逆境的能力与脱落酸(abscisic acid, ABA)信号通路相关。小麦在ABA处理下,根部*CHS*、*CHI*、*DFR*、*ANS*的表达量均发生了变化。此外,黄酮醇合成酶基因*TaFLS1*及*TaANS1*通过对ABA信号通路的正负调控在植物抗逆中发挥相反作用,其过表达分别提高植物体内黄酮醇及花青素的含量(李伟2011),说明花青素的合成参与ABA介导的植物抗逆反应。

植物抗逆相关的激素除ABA外,还有茉莉酸类(jasmonates, JAs)及水杨酸(salicylic acid, SA)等,它们作为信号分子参与植物在病虫害、干旱、盐胁迫、低温等条件下的抗逆反应(郝格格等2009; 蔡昆争等2006; 张春光等2001; 王利军等2002),而花青素的合成又与植物抗逆紧密相关。因此,研究这些激素对小麦花青素合成的分子调控对阐明紫粒小麦抗逆机制具有重要的理论和实践意义。

2.5 结构基因特别是晚期合成基因的表达需要光照

结构基因表达需要光照,其中晚期合成基因的表达与否决定小麦器官中是否能积累花青素。小麦品种Hope在胚芽鞘中积累花青素,而中国春(Chinese Spring, CS)不积累花青素。黑暗条件下,Hope和CS的胚芽鞘中*CHS*、*CHI*、*F3H*、*DFR*、

ANS/LDOX、*UFGT*均不上调;光照条件下,Hope的胚芽鞘中这些基因都被激活,但这6个基因的转录水平第2天均相对较低,从第3天到第5天增加,然后降低,到第6天时几乎检测不到,CS胚芽鞘中*EBGs*表达,但*LBGs*不表达(Ahmed等2009)。说明*LBGs*的表达需要光照而且决定了胚芽鞘是否能积累花青素。

花青素积累需要光照的特性可能与光敏色素相关。在一个小麦品系中过量表达由玉米泛素启动子控制的燕麦光敏色素A基因,持续的远红光照射下,野生型幼苗的胚芽鞘保持完全无色,而转基因型幼苗的胚芽鞘产生明显的花青素,说明光敏色素A的水平增加可改变小麦在生长发育过程中对光信号的一些响应类型(Shlumukov等2001),而且可以推测花青素晚期合成基因或调控晚期合成基因的调控基因的表达可能需要光敏色素传递光信号,这种光信号可能是远红光。可见,光照对花青素的合成是至关重要的环境因素。不同光强、光质和光周期通过调控光敏色素、隐花色素等来间接调节花青素调控基因表达从而控制花青素的积累量(Jaakola 2013),而且研究也显示光敏色素能刺激花青素的生物合成(顾雪松等1997)。目前,对于紫粒小麦花青素合成调控中关于光质、光强、光周期怎样对光敏色素或隐花色素等因子进行调控从而影响籽粒花青素沉积的作用机理并不清楚,尚需进一步深入研究。

3 小麦花青素合成调控基因对结构基因的调控作用

控制小麦各器官色素性状的基因调控花青素结构基因的表达。在近等基因系品种Saratovskaya 29 (S29)、i:S29Pp1Pp2^{PF}和i:S29Pp1Pp3^P中,*CHS*、*CHI*、*F3H*、*DFR*和*ANS*在不同器官中转录水平不同,*Rc*、*Pc*、*Plb*、*Pls*和*Pp*等位基因的存在诱导结构基因的转录水平提高和更多的花青素积累(Tereshchenko等2012b)。

调控基因编码的蛋白可能正调控花青素合成结构基因,并增加其花青素含量。*Rc*的等位基因赋予小麦胚芽鞘积累花青素且使*CHS*、*CHI*、*F3H*、*DFR*和*ANS*高水平转录(Tereshchenko等2012a)。经检测还发现,俄罗斯黑麦栽培种Selenga的*Rc*等位基因能用于提高幼苗里胚芽鞘的花青素含量(Khlestkina等2011)。CS (Hope 7A)是CS中一条染色体

被Hope的7A染色体所取代的小麦栽培种, 而7A染色体上有*Rc*基因。黑暗条件下, CS、CS (Hope 7A)、Hope的胚芽鞘都不积累花青素, 光照条件下, Hope和CS (Hope 7A)的胚芽鞘中早期和晚期基因都被激活, 产生红色胚芽鞘, CS中早期花青素合成基因表达, 晚期合成基因不表达, 产生绿色胚芽鞘, 说明7A染色体上的*Rc*基因编码晚期合成结构基因的转录激活因子, 并参与光调控的花青素合成(Ahmed等2006)。进一步研究显示, 位于7A染色体上的*Rc-A1b*等位基因特异调节*F3H-1*的表达谱和Saratovskaya 29的胚芽鞘花青素积累。比较Saratovskaya 29和CS (Hope 7A)胚芽鞘里*F3H-A1*、*F3H-B1*和*F3H-D1*的时序表达模式, *F3H-1*同源基因的表达水平在任何取样时间都没有内基因变异, 但两个基因型之间的表达谱差异明显, 说明*Rc-A1*存在功能等位基因多样性, 影响了*F3H-1*基因在有色胚芽鞘中的转录(Khlestkina等2010)。在杂交六倍体小麦中, *Rc-1*部分同源基因座的显性等位基因的存在与有色胚芽鞘中*F3H*表达相关, 每个显性*Rc-1*等位基因对3个*F3H*部分同源拷贝的表达影响一样, 但是*F3H*的表达水平依赖于显性*Rc-1*等位基因存在的同一性。因此, 部分同源*Rc-1*基因对功能分化的作用比对结构基因*F3H*的作用要大(Khlestkina等2008), 而且在小麦-黑麦染色体附加和置换系里*Rc*基因激活*F3H*是建立红色胚芽鞘特性的关键(Khlestkina等2009b)。此外, 调控基因的等位基因强弱影响其自身的调控功能, 具有强等位基因的小麦花青素含量高, 弱等位基因的花青素含量相对较低。9种小麦基因型具有不同*Rc*等位基因, 最佳的生长条件下, Saratovskaya 29弱*Rc*等位基因产生较低的花青素含量, 而另一些基因型具有较高的花青素含量, 但在低温胁迫下, 所有类型花青素水平都降低, 但由Saratovskaya 29培育的2个近等基因系具有强的*Rc*等位基因且花青素水平升高(Gordeeva等2013), 说明强的*Rc*等位基因能够响应低温胁迫。

目前, 在拟南芥、矮牵牛、玉米等植物中都克隆和功能鉴定了许多花青素合成的调控基因、结构基因以及花青素转运相关的基因, 对其调控网络也有较为深入的研究和总结(祝志欣和鲁迎青2016; Koes等2005; Jaakola 2013; Mol等1998; Neil-

son等2013; Zhao和Dixon 2010), 紫粒小麦花青素合成及调控的机制也可能遵循相似的规律, 但由于小麦基因组庞大, 每种基因的拷贝数较多, 调控基因的研究大多还在基因定位的阶段, 克隆和功能鉴定的还较少, 调控基因编码的蛋白对结构基因的调控关系并不明晰, 再加上多拷贝基因之间表达水平的不一致, 使得紫粒小麦花青素合成调控网络更加复杂化。

4 紫粒小麦花青素的积累

小麦开花20 d后, 果皮中紫色花青素开始积累, 随着叶绿素的消失首先在颖果表面逐渐形成多个不均匀分布的紫色小斑点, 然后这些色斑逐渐扩大, 在开花后20~30 d之间布满整个颖果果皮, 在非色素沉积细胞中只扩散了微量的色素; 开花后25 d果皮达到最厚, 继而随着颖果的继续发育, 果皮变薄, 色素密度增加, 整个颖果变干; 颖果成熟过程中, 水分含量降低, 颖果的每一层厚度都会变薄, 开花后30 d, 到了完全成熟阶段, 水分含量全面减少, 颖果表面颜色变深(Trojan等2014)。籽粒中花青素主要成分包括矢车菊素-3-糖苷及芍药素-3-糖苷(peonidin-3-glucoside), 糖苷有葡萄糖苷、芸香糖苷等(Dedio等1972)。但是, 花青素不能在小麦颖果的胚乳中积累, 这与颖果结构紧密相关。小麦的胚乳细胞会随着颖果的发育而衰亡, 衰亡的胚乳细胞中充满了大大小小的淀粉粒, 未观测到液泡(郑彦坤2012), 而花青素是储存在液泡里的(Zhao和Dixon 2010), 所以花青素不能在胚乳中积累。

从上述籽粒花青素沉积的过程可知, 紫粒小麦籽粒形成初期并没有花青素的积累, 随着籽粒逐渐成熟, 果皮和种皮中的花青素不断积累, 在腊熟期花青素积累达到最高(Trojan等2014), 说明花青素的积累是与籽粒的生长发育相关的。在其他许多水果的成熟过程中, 原花青素和黄酮醇在早期积累较多, 到了果实成熟时期花青素就开始积累, 进一步说明果实或者种子的生长发育对花青素积累具有调控作用, 而这种调控与植物激素又是紧密相关的, 如ABA在果实成熟之前含量会增加, JAs可能通过作用乙烯合成途径来影响色素形成等(Jaakola 2013)。

此外, 液泡里的pH值、辅色及细胞形状等都

影响花青素的显色(Mol等1998)。而且类黄酮合成途径中还有其他支路,如原花青素(proanthocyanidins)、黄酮醇(flavonol)、鞣红(phlobaphene)等的合成途径,所以当其他支路占优势时,花青素的合成就会减少或者受到抑制,但哪个支路能够占优势是与植物所处环境、生长发育阶段及细胞内信号变化紧密相关的(Petrussa等2013;刘仕芸等2006;Mol等1998;许志茹等2008)。其中植物所处的外界环境如光照、温度、水分、营养元素等通过细胞信号通路激活或抑制花青素合成的调控基因或结构基因的表达来影响花青素的积累(张宁等2008)。花青素合成及转运相关的基因变异也会影响其显色(祝志欣和鲁迎青2016),如ANS基因编码

区插入或缺失核苷酸会使石榴(*Punica granatum*)不能积累花青素等(Ben-Simhon等2015)。

5 问题与展望

综上所述,紫粒小麦花青素合成由结构基因和调控基因共同控制,由于控制各个器官中花青素合成的调控基因不同,很可能这些调控基因受生长发育相关的基因控制,而环境因子及植物激素能够通过调节结构基因和调控基因的表达量来影响花青素的积累量(图1),其中光照是关键环境因子,有无光照决定着能否积累花青素;逆境往往能提高花青素的含量,但不同品种对逆境的响应能力不同;植物激素参与花青素合成调控的信号通路等。

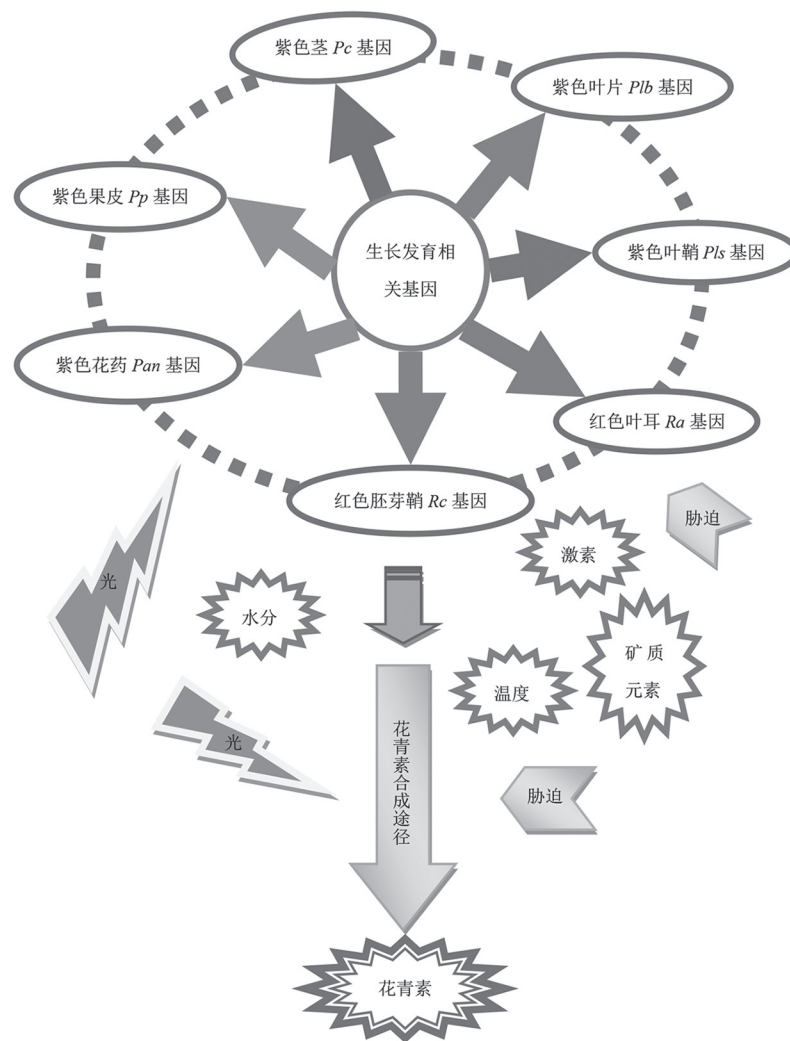


图1 小麦花青素合成分子调控模式图

Fig.1 Molecular regulation pattern of wheat anthocyanin synthesis

然而, 关于什么样的光强、光质、光周期能有效刺激紫粒小麦花青素合成相关基因表达的机制并不清楚, 但这却是关系到紫粒小麦生产布局的重要因子, 一旦这个问题得以解决, 将可以对紫粒小麦生产种植基地的合理布局进行科学预测。小麦生产实践中常会遇到虫害、病害和恶劣的自然环境, 而逆境激素(如ABA、JAs、SA)是刺激植物产生抗病、抗虫、抗旱、抗盐、抗低温等逆境反应的重要信号分子。小麦花青素的合成和抗逆性与ABA相关, 但有关JAs、SA与小麦抗逆及花青素合成的研究还很少, 且与ABA相关的研究也不够深入, 在其他植物中有关于茉莉酸诱导花青素结构基因表达的研究, 可以推知在小麦里也不例外, 通过植物抗逆激素及逆境信号研究紫粒小麦的抗逆性与花青素合成的关系, 将对培育具有优良抗性的紫粒小麦以及使用植物抗逆激素替代农药来促使植物自身抗逆能力增强的方式, 在生产上将具有较大的应用潜力。而且, 随着地球环境的日益恶化, 相比普通小麦, 紫粒小麦具有更强的生存能力。那么, 何种逆境既可维持紫粒小麦生存又能诱导其产生有益于人类健康的物质, 就成为进行紫粒小麦抗逆分子育种的重要课题。因此, 研究揭示逆境诱导紫粒小麦花青素合成的分子机制具有重要的理论价值。

参考文献

- Ahmed N, Maekawa M, Noda K (2009). Anthocyanin accumulation and expression pattern of anthocyanin biosynthesis genes in developing wheat coleoptiles. *Biol Plantarum*, 53 (2): 223–228
- Ahmed N, Maekawa M, Utsugi S, Rikiishia K, Ahmad A, Noda K (2006). The wheat *Rc* gene for red coleoptile colour codes for a transcriptional activator of late anthocyanin biosynthesis genes. *J Cereal Sci*, 44 (1): 54–58
- Ben-Simhon Z, Judeinstein S, Trainin T, Harel-Beja R, Bar-Ya'akov I, Borochoy-Neori H, Holland D (2015). A “white” anthocyanin-less pomegranate (*Punica granatum* L.) caused by an insertion in the coding region of the leucoanthocyanidin dioxygenase (*LDOX*; *ANS*) gene. *PLoS ONE*, 10 (11): e0142777
- Bi HH, Sun YW, Xiao YG, Xia LQ (2014). Characterization of *DFR* allelic variations and their associations with pre-harvest sprouting resistance in a set of red-grained Chinese wheat germplasm. *Euphytica*, 195 (2): 197–207
- Cai KZ, Dong TX, Xu T (2016). The physiological roles and resistance control in stress environment of jasmonates. *Ecol Environ*, 15 (2): 397–404 (in Chinese with English abstract) [蔡昆争, 董桃杏, 徐涛(2016). 茉莉酸类物质(JAs)的生理特性及其在逆境胁迫中的抗性作用. *生态环境*, 15 (2): 397–404]
- Dedio W, Hill RD, Evans LE (1972). Anthocyanins in the pericarp and coleoptiles of purple wheat. *Can J Plant Sci*, 52 (6): 977–980
- Gong X, Xue J, Zhang XD (2011). Regulation genes in plant anthocyanin synthesis pathway. *Curr Biotech*, 1 (6): 381–390 (in Chinese with English abstract) [宫硇, 薛静, 张晓东(2011). 植物花青素合成途径中的调控基因研究进展. *生物技术进展*, 1 (6): 381–390]
- Gordeeva EI, Shoeva OY, Khlestkina EK (2013). Cold stress response of wheat genotypes having different *Rc* alleles. *Cereal Res Commun*, 41 (4): 519–526
- Gordeeva EI, Shoeva OY, Khlestkina EK (2015). Marker-assisted development of bread wheat near-isogenic lines carrying various combinations of purple pericarp (*Pp*) alleles. *Euphytica*, 203 (2): 469–476
- Gu XS, Chen ZL, Zhu YX (1997). Phytochrome and photoregulation. *Acta Bot Sin*, 39 (7): 675–681 (in Chinese with English abstract) [顾雪松, 陈章良, 朱玉贤(1997). 光敏色素与光调控. *植物学报*, 39 (7): 675–681]
- Han B, Luo LP, Chen XY, Yu XP (2013). Research progress of anthocyanin on cancer metastasis inhibition. *J Chengdu Med Coll*, 8 (1): 107–110 (in Chinese with English abstract) [韩彬, 罗丽萍, 陈祥燕, 余小平(2013). 花青素抑制肿瘤转移研究进展. *成都医学院学报*, 8 (1): 107–110]
- Hao GG, Sun ZF, Zhang LQ, Du KM (2009). A research overview of the plant resistance to adverse environment by using abscisic acid. *Chinese Agric Sci Bull*, 18: 212–215 (in Chinese with English abstract) [郝格格, 孙忠富, 张录强, 杜克明(2009). 脱落酸在植物逆境胁迫研究中的进展. *中国农学通报*, 18: 212–215]
- Himi E, Maekawa M, Noda K (2011). Differential expression of three flavanone 3-hydroxylase genes in grains and coleoptiles of wheat. *Int J Plant Genomics*, 2011: 369460
- Himi E, Nisar A, Noda K (2005). Colour genes (*R* and *Rc*) for grain and coleoptile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat. *Genome*, 48 (4): 747–754
- Himi E, Noda K (2004). Isolation and location of three homoeologous dihydroflavonol-4-reductase (*DFR*) genes of wheat and their tissue-dependent expression. *J Exp Bot*, 55 (396): 365–375
- Himi E, Taketa S (2015). Isolation of candidate genes for the barley *Ant1* and wheat *Rc* genes controlling anthocyanin pigmentation in different vegetative tissues. *Mol Genet Genomics*, 290 (4): 1287–1298
- Hu C, Cai YZ, Li W, Corke H, Kitts DD (2007). Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Hedong Wumai) extract. *Food Chem*, 104 (3): 955–961
- Jaakola L (2013). New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends Plant Sci*, 18 (9): 477–483
- Khlestkina EK, Antonova EV, Pershina LA, Soloviev AA, Badaeva ED, Börner A, Salina EA (2011). Variability of *Rc* (red coleoptile) alleles in wheat and wheat-alien genetic stock collections. *Cereal Res Commun*, 39 (4): 465–474
- Khlestkina EK, Pestsova EG, Röder MS, Börner A (2002). Molecular mapping, phenotypic expression and geographical distribution

- of genes determining anthocyanin pigmentation of coleoptiles in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 104 (4): 632–637
- Khlestkina EK, Pshenichnikova TA, Röder MS, Börner A (2009a). Clustering anthocyanin pigmentation genes in wheat group 7 chromosomes. *Cereal Res Commun*, 37 (3): 391–398
- Khlestkina EK, Gordeeva EI, Arbutova VS (2014). Molecular and functional characterization of wheat near-isogenic line ‘i:S29Ra’ having intensive anthocyanin pigmentation of the coleoptile, culm, leaves and auricles. *Plant Breeding*, 133 (4): 454–458
- Khlestkina EK, Röder MS, Pshenichnikova TA, Börner A (2010). Functional diversity at the *Rc* (red coleoptile) gene in bread wheat. *Mol Breeding*, 25 (1): 125–132
- Khlestkina EK, Röder MS, Salina EA (2008). Relationship between homoeologous regulatory and structural genes in allopolyploid genome—a case study in bread wheat. *BMC Plant Biol*, 8: 88
- Khlestkina EK, Shoeva OY, Gordeeva EI (2015). Flavonoid biosynthesis genes in wheat. *Russ J Genet: Appl Res*, 5 (3): 268–278
- Khlestkina EK, Tereshchenko OY (2012). Functional specialization of duplicated flavonoid biosynthesis genes in wheat. *J Stress Physiol Biochem*, 8 (3): S5
- Khlestkina EK, Tereshchenko OY, Salina EA (2009b). Anthocyanin biosynthesis genes location and expression in wheat-rye hybrids. *Mol Genet Genomics*, 282 (5): 475–485
- Koes R, Verweij W, Quattrocchio F (2005). Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends Plant Sci*, 10 (5): 236–242
- Li W (2011). Study on mechanisms of *TaFLS1* and *TaANS1* of *Triticum aestivum* in abiotic stress response (PhD thesis). Jinan: Shangdong University (in Chinese with English abstract) [李伟 (2011). 小麦类黄酮合成途径基因*TaFLS1*与*TaANS1*的逆境应答机制研究(博士论文). 济南: 山东大学]
- Li XL, Zhang MS, Lv X (2016). The Research progress on plant anthocyanin synthetase *ANS* gene. *Plant Physiol J*, 52 (6): 817–827 (in Chinese with English abstract) [李小兰, 张明生, 吕享(2016). 植物花青素合成酶*ANS*基因的研究进展. *植物生理学报*, 52 (6): 817–827]
- Li XP, Lan SQ, Zhang YL, Liu YP (2010). Identification of molecular markers linked to the genes for purple grain color in wheat (*Triticum aestivum*). *Genet Resour Crop Evol*, 57 (7): 1007–1012
- Liu D, Li S, Chen W, Zhang B, Liu D, Liu B, Zhang H (2016). Transcriptome analysis of purple pericarps in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS ONE*, 11 (5): e0155428
- Liu MS, Wang F, Dong YX, Zhang XS (2005). Expression analysis of dihydroflavonol 4-reductase genes involved in anthocyanin biosynthesis in purple grains of wheat. *J Integr Plant Biol*, 47 (9): 1107–1114
- Liu SY, Huang YL, Zhang SZ (2006). Regulatory gene of anthocyanin biosynthesis in plant. *Plant Physiol Commun*, 42 (4): 747–754 (in Chinese) [刘仕芸, 黄艳岚, 张树珍(2006). 植物花青素生物合成中的调控基因. *植物生理学通讯*, 42 (4): 747–754]
- Ma D, Sun D, Wang C, Li Y, Guo T (2014). Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiol Biochem*, 80: 60–66
- Min YQ, Yan HF, Li YH (2010). WD40 proteins of anthocyanin biosynthesis in plant. *Plant Physiol Commun*, 46 (9): 863–870 (in Chinese with English abstract) [闵远琴, 闫海芳, 李玉花 (2010). 花青素合成中的WD40蛋白. *植物生理学通讯*, 46 (9): 863–870]
- Mol J, Grotewold E, Koes R (1998). How genes paint flowers and seeds. *Trends Plant Sci*, 3 (6): 212–217
- Munkvold JD, Greene RA, Bermudez-Kandianis CE, La Rota CM, Edwards H, Sorrells SF, Dake T, Benscher D, Kantety R, Linkiewicz AM, et al (2004). Group 3 chromosome bin maps of wheat and their relationship to rice chromosome 1. *Genetics*, 168 (2): 639–650
- Neilson EH, Goodger JQ, Woodrow IE, Möller BL (2013). Plant chemical defense: at what cost? *Trends Plant Sci*, 18 (5): 250–258
- Petroni K, Tonelli C (2011). Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Sci*, 181 (3): 219–229
- Petrussa E, Braidot E, Zancani M, Peresson C, Bertolini A, Patui S, Vianello A (2013). Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *Int J Mol Sci*, 14 (7): 14950–14973
- Qi XW, Shuai Q, Fan L, Zeng QW, Xiang ZH, He NJ (2013). Molecular cloning and expressional pattern of anthocyanidin synthase gene in two mulberry species with different fruit colors. *Sci Seric*, 39 (1): 5–13 (in Chinese with English abstract) [齐希武, 帅琴, 范丽, 曾其伟, 向仲怀, 何宁佳(2013). 桑树花青素合成酶(*ANS*)基因的克隆及在2种果色桑树中的表达特征. *蚕业科学*, 39 (1): 5–13]
- Qi YH (2011). Expression analysis of the genes involved in anthocyanin pathway in color maize grain (Master’s thesis). Taian: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [齐燕红(2011). 彩色玉米籽粒中参与花青素合成基因的表达分析(硕士论文). 泰安: 山东农业大学]
- Shin DH, Choi MG, Kang CS, Park CS, Choi SB, Park YI (2016a). A wheat R2R3-MYB protein PURPLE PLANT1 (*TaPL1*) functions as a positive regulator of anthocyanin biosynthesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 469 (3): 686–691
- Shin DH, Choi MG, Kang CS, Park CS, Choi SB, Park YI (2016b). Overexpressing the wheat dihydroflavonol 4-reductase gene *TaDFR* increases anthocyanin accumulation in an *Arabidopsis dfr* mutant. *Genes Genom*, 38 (4): 333–340
- Shlumukov LR, Barro F, Barcelo P, Lazzeri P, Smith H (2001). Establishment of far-red high irradiance responses in wheat through transgenic expression of an oat phytochrome A gene. *Plant Cell Environ*, 24 (7): 703–712
- Shoeva OY, Gordeeva EI, Khlestkina EK (2014a). The regulation of anthocyanin synthesis in the wheat pericarp. *Molecules*, 19 (12): 20266–20279
- Shoeva OY, Khlestkina EK (2013). *F3h* gene expression in various organs of wheat. *Mol Biol*, 47 (6): 1028–1030
- Shoeva OY, Khlestkina EK (2015). Differently expressed ‘Early’ flavonoid synthesis genes in wheat seedlings become to be co-regu-

- lated under salinity stress. *Cereal Res Commun*, 43 (4): 537–543
- Shoeva OY, Khlestkina EK, Berges H, Salina EA (2014b). The homoeologous genes encoding chalcone-flavanone isomerase in *Triticum aestivum* L.: structural characterization and expression in different parts of wheat plant. *Gene*, 538 (2): 334–341
- Tang XZ (2008). Study on the nutrition-procession quality and pigment of color wheat (PhD thesis). Taian: Shangdong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [唐晓珍(2008). 彩粒小麦营养加工品质与色素研究(博士论文). 泰安: 山东农业大学]
- Tereshchenko OY, Arbutova VS, Khlestkina EK (2013). Allelic state of the genes conferring purple pigmentation in different wheat organs predetermines transcriptional activity of the anthocyanin biosynthesis structural genes. *J Cereal Sci*, 57 (1): 10–13
- Tereshchenko OY, Gordeeva EI, Arbutova VS, Börner A, Khlestkina EK (2012a). The D genome carries a gene determining purple grain colour in wheat. *Cereal Res Commun*, 40 (3): 334–341
- Tereshchenko OY, Gordeeva EI, Arbutova VS, Khlestkina EK (2012b). Anthocyanin pigmentation in *Triticum aestivum* L.: genetic basis and role under abiotic stress conditions. *J Stress Physiol Biochem*, 8 (3): S16
- Trojan V, Musilová M, Vyhnanek T, Klejdus B, Hanáček P, Havel L (2014). Chalcone synthase expression and pigments deposition in wheat with purple and blue colored caryopsis. *J Cereal Sci*, 59 (1): 48–55
- Van den Ende W, El-Esawe SK (2014). Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: a dual function in abiotic and biotic stress responses? *Environ Exp Bot*, 108: 4–13
- Wang H, Li MF, Yang Y, Jin WM (2015). Recent advances on the molecular mechanisms of anthocyanin synthesis in fruits. *Plant Physiol J*, 51 (1): 29–43 (in Chinese with English abstract) [王华, 李茂福, 杨媛, 金万梅(2015). 果实花青素生物合成分子机制研究进展. *植物生理学报*, 51 (1): 29–43]
- Wang LJ, Zhan JC, Huang WD (2002). Salicylic acid and response to stress in plants. *Plant Physiol Commun*, 38 (6): 619–624 (in Chinese) [王利军, 战吉成, 黄卫东(2002). 水杨酸与植物抗逆性. *植物生理学通讯*, 38 (6): 619–624]
- Xu ZR, Li CL, Cui GX, Sun Y (2008). MYB protein of anthocyanin biosynthesis in plant. *Plant Physiol Commun*, 44 (3): 597–604 (in Chinese) [许志茹, 李春雷, 崔国新, 孙燕(2008). 植物花青素合成中的MYB蛋白. *植物生理学通讯*, 44 (3): 597–604]
- Yuan WY, Sun SC (1993). Progress in purple and blue wheat. *J Triticeae Crops*, (2): 12–14 (in Chinese) [袁文业, 孙善澄(1993). 紫粒和蓝粒小麦研究综述. *麦类作物学报*, (2): 12–14]
- Zeven AC (1991). Wheats with purple and blue grains: review. *Euphytica*, 56 (3): 243–258
- Zhang CG, Jing HM, Zheng HL, Zhao ZQ (2001). Progress in plant resistance induced by salicylic acid. *Life Sci Res*, 5 (3): 185–189 (in Chinese with English abstract) [张春光, 荆红梅, 郑海雷, 赵中秋(2001). 水杨酸诱导植物抗性的研究进展. *生命科学研究*, 5 (3): 185–189]
- Zhang N, Hu ZL, Chen XQ, Hou XS, Li Y, Chen GP (2008). Analysis of metabolic pathway and establishment of regulating model of anthocyanin synthesis. *China Biotech*, 28 (1): 97–105 (in Chinese with English abstract) [张宁, 胡宗利, 陈绪清, 侯晓姝, 李勇, 陈国平(2008). 植物花青素代谢途径分析及调控模型建立. *中国生物工程杂志*, 28 (1): 97–105]
- Zhao J, Dixon RA (2010). The ‘ins’ and ‘outs’ of flavonoid transport. *Trends Plant Sci*, 15 (2): 72–80
- Zheng YK (2012). Structural observation on the development of nutrient transport organization of caryopsis in maize, sorghum and wheat (PhD thesis). Yangzhou: Yangzhou University (in Chinese with English abstract) [郑彦坤(2012). 关于玉米、高粱和小麦的颖果养分运输组织发育的结构观察(博士论文). 扬州: 扬州大学]
- Zhu ZX, Lu YQ (2016). Plant color mutants and the anthocyanin pathway. *Chin Bull Bot*, 51 (1): 107–119 (in Chinese with English abstract) [祝志欣, 鲁迎青(2016). 花青素代谢途径与植物颜色变异. *植物学报*, 51 (1): 107–119]

Molecular regulation mechanism of anthocyanin synthesis in purple wheat

LI Xiao-Lan^{1,3}, ZHANG Ming-Sheng^{1,3,*}, REN Ming-Jian^{2,4}, LÜ Xiang^{1,3}, JI Ning^{1,3}, WANG Xiao-Hong^{1,3}, XU Ru-Hong²

¹*School of Life Sciences*, ²*College of Agriculture*, ³*Province-Ministry of Education Co-sponsored Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region*, ⁴*Guizhou Sub-center of National Wheat Improvement Center, Guizhou University, Guiyang 550025, China*

Abstract: Purple wheat is a type of wheat germplasm resources which accumulate anthocyanin in purple grain pericarp and testa, moreover, the coleoptile, stems, leaves, leaf sheath, auricle, anther and other parts of some cultivars also contain the anthocyanin. In this paper, we review the preliminary anthocyanin synthesis regulation mechanism of purple wheat through the purple or red trait gene locus, their encoded protein and gene function, mapping and expression pattern of anthocyanin synthase genes, and the relationship between these genes with environmental factors such as light and abiotic stress, then construct the corresponding regulation pattern model in order to provide the theoretical basis for further revealing the mechanism.

Key words: purple wheat; anthocyanin; gene mapping; molecular regulation mechanism; abiotic stress

Received 2017-02-13 Accepted 2017-03-29

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31660390), the National Key Research and Development Project (Grant No. 2016YFC0502604), the Special Fund of Science and Technology Innovation Talent Team Construction in Guizhou (Grant No. [2016] 5624), the Major Research Projects of Innovation Group of Guizhou Provincial Department of Education (Grant No. KY [2016] 023), the Project of High-Level Innovative Talents in Guizhou (Grant No. [2015] 4031) and the Science and Technology Planning Project in Guizhou (Grant No. [2016] 4022).

*Corresponding author (E-mail: mszhang@gzu.edu.cn).