

# 高温が花や果実のアントシアニン着色に及ぼす影響

北海道大学大学院農学研究院

山岸 真澄

## はじめに

花や果実の色は消費者の購買意欲に強く影響する。そのためこれらの器官の色や模様の改良は園芸植物の育種事業における主要なテーマであり、生産においては光や温度などの条件を調節して着色を良くする栽培技術の開発が進められている。アントシアニンとは、花、果実、葉や茎などに蓄積する主要な色素の一つである。アントシアニンの生合成経路はよく研究されており、生合成にかかわる遺伝子は多くの植物で特定されている。これら生合成遺伝子の転写調節と転写後調節もよく調べられてきた。さらに、光、温度、水分、栄養、傷、病原体の感染などの生物学的および非生物的要因が、花や果実におけるアントシアニンの蓄積に及ぼす影響もよく調べられている(Naik *et al.* 2022; Naing and Kim 2021)。これらの要因の中で、高温は多くの植物でアントシアニン色素の蓄積を抑制する。地球規模の気候変動による気温の上昇が各地で進行している今日、高温がアントシアニンの生合成と蓄積に影響を与える分子メカニズムを理解することは、高温の栽培環境でも生産物の品質を維持し向上させるために不可欠である。本稿では、はじめにアントシアニン生合成の転写調節および転写後調節の概要を解説し、次に高温がアントシアニン生合成の調節経路をどのように変化させるのかについてレビューする。

高温は多くの場合アントシアニンの着色を抑制するが、いくつかの種の花器官で

は着色に影響しなかったり逆に促進したりすることがわかってきた。このような種は交雑育種の交雑親として有用であるし、温度によるアントシアニン着色の調節メカニズムを研究するための材料としても有用である。この記事の後半で紹介する。

## 1. アントシアニン生合成の転写および転写後調節

### 1-1. アントシアニン色素の役割と生合成経路

アントシアニンは、非生物学的および生物学的ストレスに対する耐性において様々な役割を果たし、その生合成は、低温、紫外線 (UV) -B、過剰な光、貧栄養、乾燥、塩分、重金属、害虫や病原体の攻撃によって活性化される。さらにアントシアニンは、花粉媒介者や種子散布者を呼び寄せる役割を果たしている (Davies *et al.* 2018; Ferreyra *et al.* 2021; Landi *et al.* 2015)。アントシアニン生合成経路とこれらの経路に関わる酵素は以下の通りである (Tanaka *et al.* 2008; Tohge *et al.* 2017)。マロニル CoA と *p*-クマル酸 CoA を前駆体として、カルコンシンターゼ (CHS)、カルコンイソメラーゼ、フラバノン 3-ヒドロキシラーゼ (F3H)、フラボノイド 3'-ヒドロキシラーゼ (F3'H)、フラボノイド -3', 5'-ヒドロキシラーゼ、ジヒドロフラボノール 4-レダクターゼ (DFR)、アントシアニンシンターゼ (ANS) などの生合成酵素を用いてアントシアニジンが生合成される。アントシアニジンに糖鎖が付加したのがアントシアニンで、ウリ

ジンニリン酸グルコース:フラボノイド (またはアントシアニジン) 3-O-グルコシルトランスフェラーゼ (UFGT) などの糖を付加する酵素によって生じる。糖鎖が付くと液胞に輸送されて貯蔵される。さらにアシル基によって修飾されるアントシアニンも多数存在する。

### 1-2. R2R3-MYB 転写因子はアントシアニン生合成を正に調節する

花や果実におけるアントシアニン生合成は、主に生合成遺伝子の転写のレベルで調節されている。この転写調節には、R2R3-MYB 転写因子、塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 転写因子、および WD リピートタンパク質から構成される MYB-bHLH-WD リピート (MBW) 複合体が関与している (Lloyd *et al.* 2017; Xu *et al.* 2015)。R2R3-MYB 転写因子は N 末端に R2 と R3 の 2 つのリピートを持つ植物に特有の MYB 転写因子で、植物ならではの現象の調節に関わっている。そのうちサブグループ 6 の R2R3-MYB は活性化型の R2R3-MYB 転写因子で (以下、R2R3-MYB アクティベーターと記載する)、多くの種でアントシアニン生合成遺伝子の転写を促進してアントシアニン生合成を活発にする (表 -1)。サブグループ 5 の R2R3-MYB は多くの植物ではプロアントシアニジン (柿渋や種皮の茶色い色素) 生合成の調節に関与しているが、ラン科やイネ科の植物ではサブグループ 5 の R2R3-MYB がアントシアニン生合成を活性化し (Chiou and Yeh 2008)、ビルベリー、キウイフルーツ、リ

表-1 アントシアニン生合成遺伝子の転写を調節する R2R3-MYB アクティベーター, R2R3-MYB リプレッサー, R3-MYB<sup>1)</sup>

種	転写因子	備考
<b>R2R3-MYBアクティベーター</b>		
サブグループ6		
シロイヌナズナ	PAP1, PAP2, AtMYB113, AtMYB114	
リンゴ	MdMYBA/MdMYB1/MdMYB10	MdMYB10は果肉も赤くする
リンゴ	MdMYB110a	果皮と果肉を赤くする
オレンジ	Ruby1	
ブドウ	VvMYBA1, VvMYBA2	
ジャガイモ	SIAN1	
ペチュニア	AN2	
ペチュニア	DEEP PURPLE	Venationの形成
ペチュニア	PURPLE HAZE	Bud-blushの形成
Mimulus	Petal Lobe Anthocyanin (PELAN)	
Mimulus	NECTAR GUIDE ANTHOCYANIN (NEGAN)	斑点形成
キンギョソウ	ROSEA1, ROSEA2	
キンギョソウ	VENOSA	Bud-blushの形成
ユリ	LhMYB12	
ユリ	LhMYBSPLATTER	しぶき斑点の形成
リーガルユリ	LrMYB15	Bud-blushの形成
ユリ	LhMYB18	大きな斑点の形成
ユリ	LhMYB19Long, LhMYB19Short	突起斑点の着色, 刷毛目模様の形成
サブグループ5		
トウモロコシ	C1, PL	
ビルベリー	VmMYBPA1	
キウイフルーツ	MYBC1	
リンゴ	MdMYBPA1	
シンビジウム	CyMYB1	
ファレノプシス	PeMYB2	
ファレノプシス	PeMYB11	斑点形成
ファレノプシス	PeMYB12	Venationの形成
<b>R2R3-MYBリプレッサー</b>		
C2/EARモチーフをもつサブグループ		
シロイヌナズナ	AtMYB3, AtMYB4, AtMYB6	C2/EARモチーフ
チャノキ	CsMYBL2	C2/EARモチーフ, TLLLFRモチーフ
ポプラ	PprMYB182, PprMYB165, PprMYB194	C2/EARモチーフ, TLLLFRモチーフ
リンゴ	MdMYB16, MdMYB17	C2/EARモチーフ
リンゴ	MdMYB111	C2/EARモチーフ, TLLLFRモチーフ
モモ	PpMYB18	C2/EARモチーフ
オレンジ	CsMYB3	C2/EARモチーフ
ブドウ	VvMYBC2-L1, VvMYBC2-L2, VvMYBC2-L3	C2/EARモチーフ, TLLLFRモチーフ
ブドウ	VvMYB114	C2/EARモチーフ
イチゴ	FaMYB1	C2/EARモチーフ
ペチュニア	PhMYB27	C2/EARモチーフ
フリージア	FhMYB27	C2/EARモチーフ, TLLLFRモチーフ
サブグループ22		
ジャガイモ	StMYB44-1, StMYB44-2	C2/EARモチーフ
サブグループ7		
イエギク	CmMYB012	既知の転写抑制モチーフは見当たらない
<b>R3-MYB</b>		
シロイヌナズナ	AtMYBL2	C2/EARモチーフ, TLLLFRモチーフ
シロイヌナズナ	AtCAPRICE	
トマト	Atroviolacea	
lochroma	lIMYBL1	C2/EARモチーフ
Mimulus	ROSE INTENSITY1 (ROI1)	
Mimulus	RED TONGUE (RTO)	斑点形成
リンドウ	GtMYB1R1, GtMYB1R9	
ペチュニア	PhMYBx	
イエギク	CmMYB#7	
ユリ	R3MYB1, R3MYB2	C2/EARモチーフ
ムスカリ	MaMYBx	
フリージア	FhMYBx	

1) Yamagishi 2024 を改変した

ングではサブグループ 5 の R2R3-MYB はアントシアニンとプロアントシアニジンの両方の生合成を活性化する (Lafferty *et al.* 2022; Peng *et al.* 2020; Wang *et al.* 2018)。これらの R2R3-MYB アクティベーターは, R3 リpeat内に bHLH タンパク質と相互作用するために必要なアミノ酸のモチーフ ([D/E]Lx2[R/K]x3Lx6Lx3R) を保存している。

MBW 複合体を構成する転写因子の中で, bHLH は通常器官表面の広範な領域で発現しているのに対し, R2R3-MYB アクティベーターはしばしば空間

的に限定された領域で発現する。この場合, アントシアニンは R2R3-MYB アクティベーターが発現している限られた領域でのみ生合成されるため, その結果着色は模様となって現れる (表 -1; Albert *et al.* 2011; Hsu *et al.* 2015; Shang *et al.* 2011; Yamagishi 2018; Yuan *et al.* 2014)。例えばペチュニアの AN2 (R2R3-MYB アクティベーター) は花卉全体で発現して花卉全体をピンク色にするが, DEEP PURPLE (R2R3-MYB アクティベーター) は花卉の脈 (維管束) に添って発現し, その結果

venation (脈) に添って着色してできる模様) が生じる。さらに PURPLE HAZE (R2R3-MYB アクティベーター) は蕾の時に光が直接当たる部位で発現し, その結果バッドブラッシュ (bud-blush) と呼ばれる模様を生じる (Albert *et al.* 2011; 2014)。ユリでは LhMYB12 は花卉全体でアントシアニン生合成を調節するが, LhMYB15 はバッドブラッシュを, LhMYBSPLATTER (R2R3-MYB アクティベーター) はしぶき斑点 (splatter) の模様を生む (Yamagishi *et al.* 2014; Yamagishi 2016)。

### 1-3. アントシアニン生合成を抑制する R2R3-MYB 転写因子

アントシアニン生合成遺伝子の転写を抑制する抑制型の R2R3-MYB 転写因子（以下、R2R3-MYB リプレッサーと記載する）も存在する (LaFountain and Yuan 2021; Ma and Constabel 2019)。C2/EAR モチーフをもつサブグループの R2R3-MYB リプレッサー（表-1）は、R3 リピート内に bHLH と相互作用するために必要なモチーフを保存し、転写抑制に関わる C2 モチーフ (DLNxxP または LxLxL, ethylene response factor-associated amphiphilic repression (EAR) モチーフとも呼ばれる) を C 末端側に持つ (Cavallini *et al.* 2015)。この C2/EAR モチーフに加えて、このサブグループの R2R3-MYB リプレッサーのおよそ半分は転写抑制に関わる TLLLFR モチーフも持っている (Ma *et al.* 2018; Zhao *et al.* 2023)。これらの R2R3-MYB リプレッサーは、bHLH および WD40 パートナーと MBW 複合体を形成するとき R2R3-MYB アクティベーターと競合するか、または転写抑制モチーフを用いてアントシアニン生合成遺伝子の発現を直接抑制するか、またはその両方によって生合成を抑制すると考えられている。さらに R2R3-MYB リプレッサーの多くは発現が R2R3-MYB アクティベーターによって活性化される。したがってこれらのリプレッサーは、アントシアニンの過剰な蓄積を防ぐために、R2R3-MYB アクティベーターの活性を減衰させる負の制御フィードバックに関与すると考

えられている (Huang *et al.* 2020; Li *et al.* 2020b; Zhou *et al.* 2019)。

R2R3-MYB リプレッサーで bHLH との相互作用に必要なモチーフを持たないものも知られている。例えばジャガイモの塊茎では、StMYB44-1 と StMYB44-2 が DFR プロモーターの活性を抑制し、アントシアニン生合成を抑制する。StMYB44-1 と StMYB44-2 は C2/EAR モチーフを持っているが、bHLH との相互作用に必要なモチーフは持っていない (Liu *et al.* 2019)。さらに、イエギクのカムMYB012 はフラボンシンターゼ、CHS、DFR、ANS、UFGT の発現を抑制することで、フラボンとアントシアニン両方の生合成を阻害する (Zhou *et al.* 2021)。

### 1-4. R3-MYB 転写因子もアントシアニン生合成を抑制する

R3-MYB は N 末端に R3 リピートだけを持つ MYB 転写因子で、そのいくつかはアントシアニン生合成を負に調節する (表-1)。これらの R3-MYB 転写因子は R3 リピート内に bHLH タンパク質と相互作用するのに必要なモチーフを保持しており、しばしば競合によって R2R3-MYB アクティベーターが bHLH と結合するのを阻害し、その結果アントシアニン生合成遺伝子の転写を受動的に抑制する (Albert *et al.* 2014; Colanero *et al.* 2018; Wang and Chen 2014)。さらに、シロイヌナズナの AtMYBL2 (R3-MYB) は TLLLFR と C2/EAR の転写抑制モチーフを持ち (Matsui *et al.* 2008)、同様にユリの LhR3MYB1 と LhR3MYB2 (Sakai *et al.* 2019) お

よび *Lochroma* の IIMYBL1 (Gates *et al.* 2018) は C 末端に C2/EAR モチーフを持っていることから、これらの R3-MYB はアントシアニン生合成に関わる遺伝子の発現を能動的に抑制していると考えられている。これらの R3-MYB 転写因子は、R2R3-MYB アクティベーターの発現上昇に伴って転写量が増加することより、アントシアニンの過剰な蓄積を防ぐためにアントシアニン生合成の微調整に関与していると考えられている。

R3-MYB 転写因子は時としてユニークな表現の色を作り出す。トマト果実の *Atroviolacea* (R3-MYB) (Colanero *et al.* 2018) と *Lochroma* 花弁の IIMYBL1 (R3-MYB) (Gates *et al.* 2018) はアントシアニン生合成を強く阻害し、アントシアニンが貯まらない果実や花弁を作る。ROSE INTENSITY1 (R3-MYB) は、ミムラス (*Mimulus*) 花弁において色の強度を決定する (Yuan *et al.* 2013)。さらに RED TONGUE (RTO, R3-MYB) と NECTAR GUIDE ANTHOCYANIN (NEGAN, R2R3-MYB アクティベーター) は、ミムラス花弁における斑点形成に関与している (Ding *et al.* 2020)。以下に斑点ができるメカニズムを概説する: RTO 遺伝子の発現は NEGAN によって活性化されるが、翻訳された RTO タンパク質はその細胞から周りの隣接する細胞へと拡散するので、RTO を翻訳している細胞では RTO は NEGAN を抑制しない。また NEGAN は NEGAN 自身の転写を促進するので、その細胞では NEGAN の活性はどんどん上昇してアントシアニ

ンの生合成が活発になる。一方で隣接する細胞では拡散してきた RTO が *NEGAN* を抑制するため、アントシアニン生合成は進まない。その結果アントシアニンが蓄積する細胞の周囲ではアントシアニンが蓄積しないため着色は花卉上に斑点の模様となって現れる。

### 1-5. アントシアニン生合成の転写後調節

アントシアニン生合成の調節にはマイクロ RNA (miRNA) も関与している。miRNA は核ゲノムから転写されてできる non-coding RNA (タンパク質をコードしていない RNA) の一つで、相補的な配列を持つ mRNA (標的 mRNA) を認識してその mRNA の発現を転写後に抑制する。マイクロ RNA828(miR828) と miR858 は、ブドウの果実でアントシアニン生合成を抑制する *VvMYB114* リプレッサーの働きを抑制するので、これらの miRNA が蓄積するとアントシアニンの生合成量が増える (Tirumalai *et al.* 2019)。同様にジャガイモの塊茎では miR828 はアントシアニン生合成の R2R3-MYB リプレッサーを標的としており、miR828 の蓄積量はジャガイモ塊茎における高いアントシアニン含有量と関連している (Bonar *et al.* 2018)。一方でユリの花では、miR828 は *LhMYB12* 転写因子 (R2R3-MYB アクティベーター) の発現を抑制するので、miR828 が蓄積するとアントシアニン生合成は抑えられる。ユリのバイカラーの品種では、miR828 は一枚の花被片の下半分に多く蓄積し上半分にはわずかしか蓄積しな

いため、上半分でだけアントシアニンが生合成されバイカラーの花被片が生じる (Yamagishi and Sakai 2020)。これらの植物では同じ miRNA がアントシアニン生合成の転写後調節に関わっているが、標的となっている転写因子の違いから、ブドウの果実とジャガイモの塊茎ではアントシアニン生合成を促進することになり、逆にユリの花卉では抑制することになり、起こっている現象は種間で多様である。

シロイヌナズナとリンゴの miR828 は異なる経路を介してアントシアニンの蓄積を負に調節している。シロイヌナズナでは、miR828 はまずトランス作用性の低分子干渉 RNA (trans-acting small interfering RNA) 遺伝子 4 (*TAS4*) の転写産物を切断して、低分子干渉 RNA (small interfering RNA, siRNA) である *TAS4-siR81(-)* を生成する。*TAS4-siR81(-)* はアントシアニン生合成を促進する *PAP1*, *PAP2*, および *MYB113* 遺伝子 (すべて R2R3-MYB アクティベーター) を転写後に抑制するので、miR828 は間接的にアントシアニン生合成を負に調節することになる (Rajagopalan *et al.* 2006)。リンゴでも miR828 が *TAS4* 転写産物を切断して *TAS4-siR81(-)* を生成する。シロイヌナズナと異なりリンゴの *TAS4-siR81(-)* は R2R3-MYB を標的とせず、代わりに主に低温の条件下で果実において機能する *MdbHLH3* 転写因子遺伝子を標的とする (Xie *et al.* 2012)。リンゴにおける miR828 の蓄積量は高温に応答して増加し、その結果 *MdbHLH3* の発現を抑制するので、アントシアニンの蓄積は高温で抑

制される (Zhang *et al.* 2020)。

Squamosa Promoter Binding Protein Like (SPL) 転写因子の一つ *AtSPL9* は、シロイヌナズナにおいてアントシアニン生合成遺伝子の発現を直接妨げ、加えて MBW 複合体を不安定にすることで、アントシアニン生合成を抑制する。*AtSPL9* 遺伝子の発現は、幼若相で多く蓄積する miR156 によって転写後に抑制される (Gou *et al.* 2011)。したがって miR156-SPL9 モジュールは、個体が幼若相のときに栄養器官にアントシアニンが多く蓄積することに深く関わっている。さらに miR156 の蓄積量は非生物的ストレスによって上昇するため、miR156-SPL9 モジュールはストレス条件下でアントシアニン色素の蓄積を促す (Cui *et al.* 2014)。ブルーベリーでは miR156 は果実発達の比較の後期の段階で蓄積し、miR156 認識部位を持つ *VcSPL12* 遺伝子の発現を抑制する。*VcSPL12* は *DFR* 遺伝子の発現を直接妨げ、果実のアントシアニン生合成を正に調節する *VcMYBPA1* (アクティベーター) の機能を抑制するため、ブルーベリーの miR156-SPL12 モジュールは果実の成熟後期にアントシアニン生合成を加速させる (Li *et al.* 2020a)。

色素生合成における転写後調節は、環境の変化や植物の成長に応じた色素蓄積の精密な調節に関与していると考えられている。明らかになった事例はまだ少ないが、今後の研究は色素蓄積の微調整についての私たちの理解を深めようという期待される。

表-2 高温がアントシアニンの蓄積に及ぼす影響と主要なメカニズム<sup>1)</sup>

種	器官	主要なメカニズム
高温によって蓄積が抑制される植物		
シロイヌナズナ	葉や茎	R2R3-MYBリプレッサーとR3-MYBの活性化
チャノキ	葉	CsMYBL2 (R2R3-MYBリプレッサー)の活性化
リンゴ	果実	MdMYBA/MdMYB1/MdMYB10 (R2R3-MYBアクティベーター)の発現抑制
クラブアップル ( <i>Malus profusion</i> )	果実	アントシアニン生成の抑制と分解の促進
イチゴ	果実	FaMYB10 (R2R3-MYBアクティベーター)の発現抑制
ブドウ	果実	アントシアニンの分解促進
ブドウ'巨峰'	果実	VIMYBA2 (R2R3-MYBアクティベーター)の発現抑制
ジャガイモ	塊茎	StAN1 (R2R3-MYBアクティベーター)とStbHLH1の発現抑制
イエギク	花	CmMYB012 (R2R3-MYBリプレッサー)の活性化
オリエンタルハイブリッドユリ	花	LhMYB12 (R2R3-MYBアクティベーター)の発現抑制
シンビジウム	花	CyMYB1 (R2R3-MYBアクティベーター)の発現抑制
高温によって蓄積が促進される植物		
アジアティックハイブリッドユリ	花	LhMYB12 (R2R3-MYBアクティベーター)の発現促進

1) Yamagishi 2024 を改変した

## 2. 高温がアントシアニンの蓄積を抑制するメカニズム

### 2-1. R2R3-MYB アクティベーターの発現抑制が花や果実の色あせの主な原因である

高温は多くの植物種でアントシアニンの蓄積を抑制する (Man *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016b; Zhang *et al.* 2019; Shi *et al.* 2022; Tan *et al.* 2023)。このような種では、高温下で R2R3-MYB アクティベーター遺伝子の発現がしばしば減少する (表-2)。例えばリンゴの *MdMYBA/MdMYB1/MdMYB10* (Lin-Wang *et al.* 2011)、イチゴの *FaMYB10* (Matsushita *et al.* 2016)、オリエンタルハイブリッドユリの *LhMYB12* (Lai *et al.* 2011)、シンビジウムの *CyMYB1* (Nakatsuka *et al.* 2019) は高温で発現量が低下し、その結果アントシアニンの生合成量が低下する。オリエンタルハイブリッドユリ品種‘マレロ’では、花の発達ステージ2と3のときに高温に遭遇すると花の着色不良が起こるが (図-1)、他のステージでは起こらない。ステージ2と3は本来 *LhMYB12* アクティベーターの発現が上昇して生合成が活発になるステージであるが、高温はこの発現を抑制する (Lai *et al.* 2011)。シンビジウムの花の花被片(3枚の萼片と2枚の側花弁)では、*CyMYB1* および *CybHLH2* ならび

に主要なアントシアニン生成遺伝子の発現レベルが高温によって強く抑制され、生合成が抑制される (Nakatsuka *et al.* 2019)。このように R2R3-MYB アクティベーターの発現抑制は、高温でアントシアニンの蓄積が抑制される主要な原因の一つであると考えられる。

R2R3-MYB アクティベーターに加えて R2R3-MYB リプレッサーと R3-MYB も高温による生合成の抑制に関与している (表-2)。シロイヌナズナの葉や茎では、少なくとも3つの抑制因子、*AtMYB3* (R2R3-MYBリプレッサー)と*AtMYB6*(R2R3-MYBリプレッサー)と*AtMYBL2* (R3-MYB)、の発現が高温によって活性化され、生合成が抑制される (Rowan *et al.* 2009)。同様に、チャノキ (*Camellia sinensis*) の *CsMYBL2* (R2R3-MYBリプレッサー) の発現は高温で上昇し、アントシアニン生合成を阻害する (Zhao *et al.* 2023)。紫色のジャガイモの塊茎では、熱ストレスが *StAN1* (R2R3-MYBアクティベーター)と*StbHLH1* の発現を低下させると同時に、*StMYB44-1* および *StMYB44-2* (R2R3-MYBリプレッサー) の発現を誘導し、その結果塊茎内に白い部分が生じる (Liu *et al.* 2019)。イエギク花被片のアントシアニン含有量は 35 °C で劇的に減少するが、*CmMYB012* (R2R3-MYBリプレッサー) は長期間の高温処理によって発現が強く誘導されアントシアニン生合成を阻害する (Zhou *et al.* 2021)。



図-1 20°Cと35°Cで2日間栽培したオリエンタルハイブリッドユリ品種‘マレロ’詳しくは Lai *et al.* 2011 を参照

### 2-2. 葉と果実において MYB の発現に影響する上流の因子

アントシアニン生合成を制御する R2R3-MYB アクティベーター、R2R3-MYB リプレッサー、および R3-MYB の発現に影響する上流の因子は、シロイヌナズナの葉やリンゴなどの果実で評価されている (図-2)。これらの器官では、温度に加えて光(可視光と UV-B)もアントシアニン生合成に強く影響する。一般に高温はアントシアニンの蓄積を抑制するが、光は蓄積を促進する。この光と温度によるアントシアニン生合成の制御には CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1-ELONGATED HYPOCOTYL 5 (COP1-HY5) モジュールが深く関わっている。COP1-HY5 モジュールは光刺激を伝達して光形態形成に関わる因子として当初機能が調べられたが、その後温度刺激の伝達にも関わるということが明らかにされた。

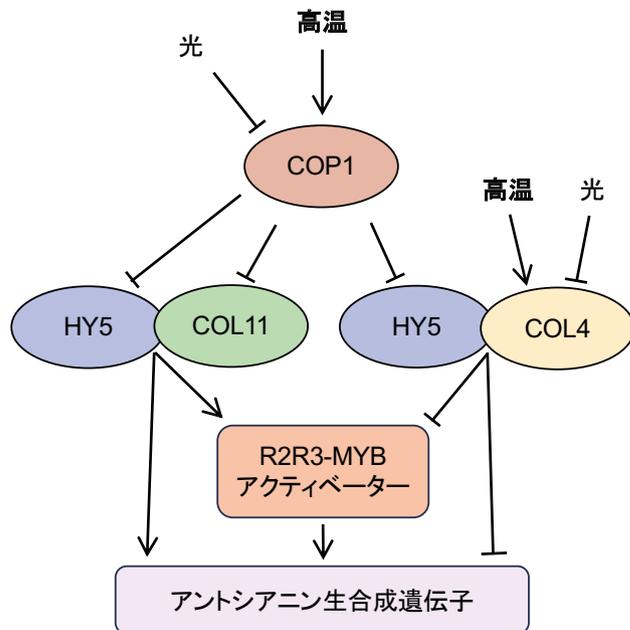


図-2 果実や葉と茎におけるアントシアニン生合成が高温によって抑制されるメカニズム。高温は COP1 や COL4 の活性を高め、光は低下させる。COL11 と HY5 の複合体はアントシアニン生合成を促進するが、COP1 は COL11 - HY5 複合体の働きを抑制する。COL4 は HY5 と複合体を作りアントシアニン生合成を抑制する。図中の矢印は促進、T 字の棒は抑制を表す。略語：COL, CONSTANS-Like；COP1, CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1；HY5, ELONGATED HYPOCOTYL 5

シロイヌナズナの AtHY5 は、*CHS* や *F3H* などの生合成遺伝子のプロモーターに直接結合することで (Shin *et al.* 2007), また *PAP1* (R2R3-MYB アクティベーター) の発現を上昇させることで (Shin *et al.* 2013), アントシアニン生合成を促進する。AtCOP1 タンパク質は AtHY5 タンパク質を分解することで AtHY5 の機能を抑制する (Gangappa and Botto 2016; Podolec and Ulm 2018)。光は、フィトクロム、クリプトクロム、UV RESISTANCE LOCUS 8 (UV 受容体タンパク質) などの光受容体を介して COP1 タンパク質を核から細胞質へと移行させ、これにより核内の COP1 タンパク質のレベルは減少するので、光が当たると AtHY5 の活性が上昇してアントシアニン生合成が活発になる。対照的に、高温は核内の COP1 タンパク質のレベルを高めるので、高温下では AtHY5 タンパク質の分解が進んでアントシアニン生合成量が少なくなる (Kim *et al.* 2017; Park *et al.* 2017; Xiao *et al.* 2022)。同時に、AtHY5 は miR858 を用いて *AtMYBL2*

(R3-MYB) の発現を抑制する。したがって高温下では *AtMYBL2* の発現量が増しアントシアニン生合成はさらに抑制される (Kim *et al.* 2017; Wang *et al.* 2016a)。

リンゴ (An *et al.* 2017; Peng *et al.* 2013), ナス (Jiang *et al.* 2016), ナシ (Tao *et al.* 2018) の果実、およびトマトの葉と果実 (Liu *et al.* 2018; Qiu *et al.* 2019) では、HY5 タンパク質が R2R3-MYB アクティベーターとアントシアニン生合成遺伝子の発現を高め、暗所では COP1 によって HY5 が負に調節されるので生合成が抑制される。このようにシロイヌナズナと似た COP1-HY5 モジュールの役割が明らかにされているが、温度との関連は分かっていない。

B-box (BBX) 転写因子は、CONSTANS-Like (COL) 転写因子としても知られ、タンパク質レベルで HY5 と相互作用して標的遺伝子の発現を調節する (図-2)。したがって BBX/COL は光形態形成とアントシアニン生合成において重要な役割を果たしてい

る。BBX/COL には HY5 と結合して標的遺伝子の発現を促進するものと抑制するものがある。シロイヌナズナでは AtBBX20, AtBBX21, AtBBX22 は標的遺伝子を活性化させるが、AtBBX24, AtBBX25, AtBBX32 が HY5 と相互作用すると HY5 の標的遺伝子の発現を抑制する (Bursch *et al.* 2020; Gangappa and Botto 2014; Xu *et al.* 2018)。

アントシアニン生合成の調節に関与する BBX/COL タンパク質は、リンゴ、ナシ、ブドウでも特定されている (An *et al.* 2019; An *et al.* 2020; Bai *et al.* 2019a; 2019b; Fang *et al.* 2019b; Liu *et al.* 2023)。AtBBX22 のホモログであるリンゴの MdCOL11 は *MdMYBA/MdMYB1/MdMYB10* アクティベーターの転写を直接刺激する。注目すべきは、UV-B は *MdCOL11* の発現を促進する一方で高温はその発現を抑制することである (Bai *et al.* 2014)。さらに AtBBX24 のホモログであるリンゴの *MdCOL4* は、MdCOL4-MdHY5 二量体を形成して、*ANS*, *UFGT*, および *MdMYBA/MdMYB1/MdMYB10* 遺伝子の発現を抑制する。*MdCOL4* 遺伝子の発現は高温によって誘導されるため、*MdCOL4* は高温によるアントシアニン生合成の抑制に関与している (Fang *et al.* 2019a)。以上のように光と高温は広範な果実や葉において、COP1-HY5 モジュールや BBX/COL といった共通する因子を介して標的遺伝子の発現を調節することで、アントシアニン生合成に影響を与える。

### 2-3. 花において R2R3-MYB 転写因子の発現に影響する上流因子

花器官でも、光によって誘導されるアントシアニン合成に COP1-HY5 モジュールが関わっていることがバラ (*Rosa hybrida*) で明らかにされている。RhHY5 タンパク質のレベルは明条件で増加するが、暗条件では減少する。RhHY5 はバラ品種‘ブルゴーニュアイスバーグ’の花弁で *RhCHS*, *RhF3'H*, *RhANS*, *RhGT1 (UFGT)*, および *RhMYB114a* アクティベーターの発現を活性化し、*RhMYB3b* リプレッサーの発現を抑制する (Yan *et al.* 2023)。しかしながら高温が RhHY5 の機能に影響するかどうかについては評価されていない。私たちの知る限り、これは花のアントシアニン合成における HY5 の役割を実証した最初の報告である。しかしこのような報告はバラ以外では見当たらず、R2R3-MYB アクティベーターの上流で働く因子の解析は葉や果実と比較して限られている。ではなぜ花では上流の因子が分かっていないのだろうか？

光はリンゴなどの果実の着色に強い影響を与え、暗所で果実を肥大させるとアントシアニンの蓄積は強く抑制され、しばしば果実は白くなる (Bai *et al.* 2019b; Fang *et al.* 2019a; Jiang *et al.* 2016; Li *et al.* 2020c)。一方で花におけるアントシアニンの着色に及ぼす光の影響は果実や葉ほど顕著でなく、完全に暗い条件で栽培しても花は着色する。このことから多くの花では、COP1-HY5 モジュールは R2R3-MYB 転写因子の調

節に直接関わっていない可能性が予測される。例外は bud-blush (蕾の時に光が直接当たった部位で色素が蓄積してできる模様) の形成で、このときのアントシアニン合成は光に強く依存している。bud-blush を制御するペチュニアの *PURPLE HAZE* やユリの *LrMYB15* (いずれも R2R3-MYB アクティベーター) の発現は光によって誘導される (Albert *et al.* 2011; 2014; Yamagishi 2016)。上述のバラでは 5 つの R2R3-MYB アクティベーターが特定されており、そのうち *RhMYB114a* の発現は光の影響を受けるが (Yan *et al.* 2023)、バラの花における主要なアクティベーターであり花弁で強く発現している *RhMYB113a* の発現は光の影響を受けないため、バラを暗所で育ててもかなりの量のアントシアニンが花弁に蓄積する (Yan *et al.* 2023)。単一の植物種は多様な色素沈着パターンを作り出すために複数の R2R3-MYB アクティベーターを持つことが多く、バラの *RhMYB113a* は花全体の着色に、*RhMYB114a* は bud-blush の模様形成に関与していると推測され、*RhMYB113a* は HY5 の影響を受けない可能性が考えられる。しかしこの仮説を確認するためにさらなる研究が必要である。

このように花のアントシアニン合成では R2R3-MYB 転写因子の調節に COP1-HY5 モジュールはあまり関わっていないことが予測される。葉や果実と異なり、花では未知のルートを用いて温度刺激が伝達されていることを示唆している。今後、このような上流因子を解明するためのさらなる研究が必要である。

### 2-4. 一部の果実の着色不良はアントシアニン色素の能動的な分解によって起こる

高温による分解の促進が着色の低下に関わるケースも報告されている。ブドウの‘巨峰’では高温によって *VIMYBA2* (R2R3-MYB アクティベーター) の発現が抑制されて合成が低下する (Ryu *et al.* 2020) が、多くの品種のブドウ果実では高温がアントシアニン合成に及ぼす影響は他の種の果実ほど顕著でなく、むしろアントシアニンの分解が高温で進み、高温でアントシアニンの蓄積量が低下する主要な原因となっている (Mori *et al.* 2007; Pastore *et al.* 2017)。クラス III ペルオキシダーゼは液胞に貯まっているアントシアニンの能動的な分解に関与しており (Zipor *et al.* 2015)、その活性はブドウの果実で高温によって著しく増加する (Movahed *et al.* 2016)。同様に、プラム (*Prunus salicina*) の果実でもクラス III ペルオキシダーゼ活性の増加が高温下でのアントシアニン蓄積量の低下に関わっている (Niu *et al.* 2017)。クラブアップル (*Malus profusion*) の果実では高温環境で、MpMYB10 アクティベーターの抑制と MpMYB15 リプレッサーの促進によるアントシアニン合成の抑制に加えてクラス III ペルオキシダーゼの活性化による分解の促進が起こる (Rehman *et al.* 2017)。アントシアニン色素の能動的な分解が高温によって促進される事例は花器官ではまだ報告されていないと思われる。

### 3. 高温でもアントシアニンの蓄積量が減少しない園芸植物

#### 3-1. アジアティックハイブリッドユリでは高温で花の色が濃くなる

高温は多くの花や果実でアントシアニンの蓄積を抑制するが、高温でもアントシアニンの蓄積量に影響がでない、あるいは逆に蓄積が促進される事例が報告されている。アジアティックハイブリッドユリ (*Lilium* spp.) の花では 20 °C で栽培した場合よりも 35 °C で栽培した方がアントシアニンの色が濃くなる (図-3, Yamagishi 2022; 2024)。通常高温は R2R3-MYB アクティベーターの発現を抑制するが、アジアティックハイブリッドユリの *LhMYB12* アクティベーターの転写量は高温によって上昇し、その結果アントシアニン生合成遺伝子の発現量も増加する。

同じユリでもオリエンタルハイブリッドユリでは他の多くの植物種と同様、高温で *LhMYB12* アクティベーターの発現抑制が起こり色は薄くなる (Lai *et al.* 2011)。この違いはどこから生ずるのであろうか? アジアティックハイブリッドユリとオリエンタルハイブリッドユリは *Lilium* 属の異なる節 (セクション) の野生の種から種間交雑によって育成されており、遺伝的には遠縁である。両者の *LhMYB12* のゲノムの塩基配列を比較すると、開始コドンより下流の配列 (2つのイントロンと 3' 非翻訳領域を含む) はアジアティックハイブリッドユリとオリエンタルハイブリッドユリ

でよく似ているが、上流の配列 (プロモーター領域の配列) は著しく異なっている (Yamagishi 2021)。この違いが温度に対する応答の違いになっていると予測される。今後両プロモーターの機能を比較解析すれば、温度に应答するシスエレメントの特定や上流の制御因子 (トランスエレメント) の解明が進み、高温による着色抑制を解決するための糸口が掴めるかもしれない。

#### 3-2. シンビジウムではアントシアニン色素の蓄積に高温耐性が認められる

シンビジウムでも興味深い報告がなされている。シンビジウムの花は花被片 (萼片と側花弁), 唇弁, ずい柱からなる。花被片のアントシアニン蓄積量は高温によって著しく抑制されるが、唇弁とずい柱の蓄積量は温度の影響を受けにくく、高温と低温で差が小さい。唇弁におけるアントシアニンの生合成遺伝子や R2R3-MYB アクティベーター遺伝子の発現レベルは高温で減少するものの、それでもそのレベルは花被片における低温下での発現レベルと同じかそれよりも高い。このようにシンビジウムでは、花被片、唇弁、ずい柱が高温に対して異なる反応を示す (Nakatsuka *et al.* 2019)。花被片と唇弁を比較検討して温度に対する違いの原因を明らかにできれば、高温による着色抑制を回避するための手掛かりが得られると期待される。

### おわりに

地球の至るところで気温の上昇が進む



図-3 20°Cと35°Cで栽培したアジアティックハイブリッドユリ品種‘トロント’。横棒は1cmを表す。詳細は Yamagishi 2022 を参照

中、高温がアントシアニン生合成を抑制する分子メカニズムを解明することは重要な研究テーマである。高温条件下では多くの花や果実で、R2R3-MYB アクティベーターの発現抑制および R2R3-MYB リプレッサーと R3-MYB 転写因子の発現増加が観察される。果実や葉では光と温度がアントシアニン生合成に影響し、ここでは COP1-HY5 モジュールと BBX/COL 転写因子が光と温度の刺激を伝達して MYB 転写因子やアントシアニン生合成遺伝子の発現を制御していることが明らかになってきた。一方花では R2R3-MYB 転写因子を調節する上流の経路の理解が不十分で、このことが花のアントシアニン蓄積が高温によって抑制されるメカニズムの理解を制限している。COP1-HY5 モジュールは多くの場合花では調節に関与していないと予測され、それに代わる調節機構の解明が必要である。

さらに、シンビジウムの花被片と唇弁、およびオリエンタルハイブリッドユリとアジアティックハイブリッドユリの花被片では、温度に対して異なる応答を示すことが分かってきた。これらの材料を比較して違いの原因を明らかにできれば、R2R3-MYB 転写因子を調節する上流の経路が解明できるかもしれないし、その成果は高温の影響を回避できる品種の育成や栽培技術の開発につながると期待される。

## 参考文献

- Albert, N. W. *et al.* 2014. A conserved network of transcriptional activators and repressors regulates anthocyanin pigmentation in eudicots. *Plant Cell*. 26, 962–980.
- Albert, N. W. *et al.* 2011. Members of an R2R3-MYB transcription factor family in *Petunia* are developmentally and environmentally regulated to control complex floral and vegetative pigmentation patterning. *Plant J.* 65, 771–784.
- An, J. *et al.* 2017. The bZIP transcription factor MdHY5 regulates anthocyanin accumulation and nitrate assimilation in apple. *Hortic. Res.* 4, 17023.
- An, J. *et al.* 2019. MdBBX22 regulates UV-B-induced anthocyanin biosynthesis through regulating the function of MdHY5 and is targeted by MdbT2 for 26S proteasome-mediated degradation. *Plant Biotech. J.* 17, 2231–2233.
- An, J. *et al.* 2020. An apple b-box protein MdBBX37 modulates anthocyanin biosynthesis and hypocotyl elongation synergistically with MdMYBs and MdHY5. *Plant Cell Physiol.* 61, 130–143.
- Bai, S. *et al.* 2014. An apple B-box protein, MdCOL11, is involved in UV-B- and temperature-induced anthocyanin biosynthesis. *Planta* 240, 1051–1062.
- Bai, S. *et al.* 2019a. BBX16, a B-box protein, positively regulates light-induced anthocyanin accumulation by activating MYB10 in red pear. *Plant Biotechnol. J.* 17, 1985–1997.
- Bai, S. *et al.* 2019b. Two B-box proteins, PpBBX18 and PpBBX21, antagonistically regulate anthocyanin biosynthesis via competitive association with *Pyrus pyrifolia* ELONGATED HYPOCOTYL 5 in the peel of pear fruit. *Plant J.* 100, 1208–1223.
- Bonar, N. *et al.* 2018. Potato miR828 is associated with purple tuber skin and flesh color. *Front. Plant Sci.* 9, 1742.
- Bursch, K. *et al.* 2020. Identification of BBX proteins as rate-limiting cofactors of HY5. *Nat. Plant* 6, 921–928.
- Cavallini, E. *et al.* 2015. The phenylpropanoid pathway is controlled at different branches by a set of R2R3-MYB C2 repressors in grapevine. *Plant Physiol.* 167, 1448–1470.
- Chiou, C. Y. and Yeh, K. W. 2008. Differential expression of MYB gene (*OgMYB1*) determines color patterning in floral tissue of *Oncidium* Gower Ramsey. *Plant Mol Biol.* 66, 379–388.
- Colanero, S. *et al.* 2018. The *atroviolacea* gene encodes an R3-MYB protein repressing anthocyanin synthesis in tomato plants. *Front. Plant Sci.* 9, 1–17.
- Cui, L. *et al.* 2014. The miR156-SPL9-DFR pathway coordinates the relationship between development and abiotic stress tolerance in plants. *Plant J.* 80, 1108–1117.
- Davies, K. *et al.* 2018. Functions of flavonoid and betalain pigments in abiotic stress tolerance in plants. *Annu. Plant Rev.* Online 1, 1–41.
- Ding, B. *et al.* 2020. Two MYB proteins in a self-organizing activator-inhibitor system produce spotted pigmentation patterns. *Current Biol.* 30, 802–814.
- Fang, H. *et al.* 2019a. MdCOL4 interaction mediates crosstalk between UV-B and high temperature to control fruit coloration in apple. *Plant Cell Physiol.* 60, 1055–1066.
- Fang, H. *et al.* 2019b. The B-box zinc finger protein MdBBX20 integrates anthocyanin accumulation in response to ultraviolet radiation and low temperature. *Plant Cell Environ.* 42, 2090–2104.
- Ferreira, M. L. F. *et al.* 2021. Recent advances on the roles of flavonoids as plant protective molecules after UV and high light exposure. *Physiol. Plant.* 173, 736–749.
- Gangappa, S. N. and Botto, J. F. 2014. The BBX family of plant transcription factors. *Trends Plant Sci.* 19, 460–470.
- Gangappa, S. N. and Botto, J. F. 2016. The multifaceted roles of HY5 in plant growth and development. *Mol. Plant* 9, 1353–1365.
- Gates, D. J. *et al.* 2018. A novel R3 MYB transcriptional repressor associated with the loss of floral pigmentation in *Ioichroma*. *New Phytol.* 217, 1346–1356.
- Gou, J. *et al.* 2011. Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis by a miR156-targeted SPL transcription factor. *Plant Cell* 23, 1512–1522.
- Hsu, C. *et al.* 2015. Three R2R3-MYB transcription factors regulate distinct floral pigmentation patterning in *Phalaenopsis* spp. *Plant Physiol.* 168, 175–191.
- Huang, D. *et al.* 2020. *CsMYB3* and *CsRUBY1* form an ‘activator-and-repressor’ loop for the regulation of anthocyanin biosynthesis in citrus. *Plant Cell Physiol.* 61, 318–330.
- Jiang, M. *et al.* 2016. Novel insight into the mechanism underlying light-controlled anthocyanin accumulation in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plant Sci.* 249, 46–58.
- Kim, S. *et al.* 2017. High ambient temperature represses anthocyanin biosynthesis through degradation of HY5. *Front. Plant Sci.* 8, 1787.
- LaFountain, A. M. and Yuan, Y. 2021. Repressors of anthocyanin biosynthesis. *New Phytol.* 231, 933–949.
- Lafferty, D. J. *et al.* 2022. Hierarchical regulation of MYBPA1 by anthocyanin- and proanthocyanidin-related MYB proteins is conserved in *Vaccinium* species. *J. Exp. Bot.* 73, 1344–1356.
- Lai, Y. *et al.* 2011. Elevated temperature inhibits anthocyanin biosynthesis in the tepals of an Oriental hybrid lily via the suppression of *LhMYB12* transcription. *Sci Hortic.* 132, 59–65.
- Landi, M. *et al.* 2015. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environ. Exp. Bot.* 119, 4–17.
- Li, X. *et al.* 2020a. A blueberry MIR156a-SPL12 module coordinates the accumulation of chlorophylls and anthocyanins during fruit ripening. *J. Exp. Bot.* 71, 5976–5989.
- Li, Y. *et al.* 2020b. MYB repressors and MBW activation complex collaborate to fine-tune flower coloration in *Freesia hybrida*. *Commun. Biol.* 3, 1–14.
- Li, Y. *et al.* 2020c. FvbHHLH9 functions as a positive regulator of anthocyanin biosynthesis by forming a HY5-bHHLH9 transcription complex in strawberry fruits. *Plant Cell Physiol.* 61, 826–837.
- Lin-Wang, K. *et al.* 2011. High temperature reduces apple fruit colour via modulation of the anthocyanin regulatory complex. *Plant Cell Environ.* 34, 1176–1190.
- Liu, C. *et al.* 2018. The bZip transcription factor HY5 mediates CRY1a-induced anthocyanin biosynthesis in tomato. *Plant Cell Environ.* 41, 1762–1775.
- Liu, Y. *et al.* 2019. StMYB44 negatively regulates anthocyanin biosynthesis at high temperatures in tuber flesh of potato. *J. Exp. Bot.* 70, 3809–3824.
- Liu, W. *et al.* 2023. VvBBX44 and VvMYBA1 form a regulatory feedback loop to balance anthocyanin biosynthesis in grape. *Hort. Res.* 10, uhad176.
- Lloyd, A. *et al.* 2017. 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. *Plant Cell Physiol.* 58, 1431–1441.
- Ma, D. and Constabel, C. P. 2019. MYB repressors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants. *Trends Plant Sci.* 24, 275–289.
- Ma, D. *et al.* 2018. Two R2R3-MYB proteins are broad repressors of flavonoid and phenylpropanoid metabolism in poplar. *Plant J.* 96, 949–965.
- Man, Y. *et al.* 2015. High-temperature inhibition of biosynthesis and transportation of anthocyanins results in the poor red coloration in red-fleshed *Actinidia chinensis*. *Physiol. Plant.* 153, 565–583.
- Matsui, K. *et al.* 2008. AtMYB12, a protein with a single MYB domain, acts as a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis. *Plant J.* 55, 954–967.
- Matsushita, K. *et al.* 2016. The effect of high air temperature on anthocyanin concentration and the expressions of its biosynthetic genes in strawberry ‘Sachinoka’. *Environ. Control Biol.* 54, 101–107.
- Mori, K. *et al.* 2007. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *J. Exp. Bot.* 58, 1935–1945.
- Movahed, N. *et al.* 2016. The grapevine VviPrx31 peroxidase as a candidate gene involved in anthocyanin degradation in ripening berries under high temperature. *J. Plant Res.* 129, 513–526.
- Naik, J. *et al.* 2022. Molecular components associated with the regulation of flavonoid biosynthesis. *Plant Sci.* 317, 111196.
- Naing, A. H. and Kim, C. K. 2021. Abiotic stress-induced anthocyanins in plants: their role in tolerance to abiotic stresses. *Physiol. Plant.* 172, 1711–1723.
- Nakatsuka, T. *et al.* 2019. Floral organ- and temperature-dependent regulation of anthocyanin biosynthesis in *Cymbidium* hybrid flowers. *Plant Sci.* 287, 110173.
- Niu, J. *et al.* 2017. Anthocyanin concentration

- depends on the counterbalance between its synthesis and degradation in plum fruit at high temperature. *Sci. Rep.* 7, 7684.
- Park, Y. *et al.* 2017. COP1 conveys warm temperature information to hypocotyl thermomorphogenesis. *New Phytol.* 215, 269–280.
- Pastore, C. *et al.* 2017. Whole plant temperature manipulation affects flavonoid metabolism and the transcriptome of grapevine berries. *Front. Plant Sci.* 8, 929.
- Peng, T. *et al.* 2013. Screening of UV-B-induced genes from apple peels by SSH: possible involvement of MdCOP1-mediated signaling cascade genes in anthocyanin accumulation. *Physiol. Plant.* 148, 432–444.
- Peng, Y. *et al.* 2020. The proanthocyanin-related transcription factors MYBC1 and WRKY44 regulate branch points in the kiwifruit anthocyanin pathway. *Sci. Rep.* 10, 14161.
- Podolec, R. and Ulm, R. 2018. Photoreceptor-mediated regulation of the COP1/SPA E3 ubiquitin ligase. *Curr. Opin. Plant Biol.* 45, 18–25.
- Qiu, Z. *et al.* 2019. Identification of candidate HY5-dependent and -independent regulators of anthocyanin biosynthesis in tomato. *Plant Cell Physiol.* 60, 643–656.
- Rajagopalan, R. *et al.* 2006. A diverse and evolutionarily fluid set of microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev.* 20, 3407–3425.
- Rehman, R. N. U. *et al.* 2017. High temperature induced anthocyanin inhibition and active degradation in *Malus profusion*. *Front. Plant Sci.* 8, 1401.
- Rowan, D.D. *et al.* 2009. Environmental regulation of leaf colour in red 35S:PAP1 *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* 182, 102–115.
- Ryu, S. *et al.* 2020. High temperature at veraison inhibits anthocyanin biosynthesis in berry skins during ripening in ‘Kyoho’ grapevines. *Plant Physiol. Biochem.* 157, 219–228.
- Sakai, M. *et al.* 2019. Repression of anthocyanin biosynthesis by R3-MYB transcription factors in lily (*Lilium* spp.). *Plant Cell Rep.* 38, 609–622.
- Shang, Y. *et al.* 2011. The molecular basis for venation patterning of pigmentation and its effect on pollinator attraction in flowers of *Antirrhinum*. *New Phytol.* 189, 602–615.
- Shi, Z. *et al.* 2022. Transcriptome analysis reveals chrysanthemum flower discoloration under high-temperature stress. *Front. Plant Sci.* 13, 1003635.
- Shin, J. *et al.* 2007. PIF3 regulates anthocyanin biosynthesis in an HY5-dependent manner with both factors directly binding anthocyanin biosynthetic gene promoters in *Arabidopsis*. *Plant J.* 49, 981–994.
- Shin, D. *et al.* 2013. HY5 regulates anthocyanin biosynthesis by inducing the transcriptional activation of the MYB75/PAP1 transcription factor in *Arabidopsis*. *FEBS Lett.* 587, 1543–1547.
- Tan, Y. *et al.* 2023. High temperature inhibited the accumulation of anthocyanin by promoting ABA catabolism in sweet cherry fruits. *Front. Plant Sci.* 14, 1079292.
- Tanaka, Y. *et al.* 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J.* 54, 733–749.
- Tao, R. *et al.* 2018. The blue light signal transduction pathway is involved in anthocyanin accumulation in ‘Red Zaosu’ pear. *Planta* 248, 37–48.
- Tirumalai, V. *et al.* 2019. MiR828 and MiR858 regulate VvMYB114 to promote anthocyanin and flavonol accumulation in grapes. *J. Exp. Bot.* 70, 4775–4792.
- Tohge, T. *et al.* 2017. Current understanding of the pathways of flavonoid biosynthesis in model and crop plants. *J. Exp. Bot.* 68, 4013–4028.
- Wang, S. and Chen, G. 2014. Regulation of cell fate determination by single-repeat R3 MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 5, 133.
- Wang, Y. *et al.* 2016a. Repression of MYBL2 by both microRNA858a and HY5 leads to the activation of anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Mol. Plant* 9, 1395–1405.
- Wang, N. *et al.* 2016b. Synergistic effects of light and temperature on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 127, 217–227.
- Wang, N. *et al.* 2018. The proanthocyanidin-specific transcription factor MdMYBPA1 initiates anthocyanin synthesis under low-temperature conditions in red-fleshed apples. *Plant J.* 96, 39–55.
- Xiao, Y. *et al.* 2022. HY5: A pivotal regulator of light-dependent development in higher plants. *Front. Plant Sci.* 12, 800989.
- Xie, X. *et al.* 2012. The bHLH transcription factor MdbHLH3 promotes anthocyanin accumulation and fruit colouration in response to low temperature in apples. *Plant Cell Environ.* 35, 1884–1897.
- Xu, W. *et al.* 2015. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes. *Trends Plant Sci.* 20, 176–185.
- Xu, D. *et al.* 2018. The B-Box domain protein BBX21 promotes photomorphogenesis. *Plant Physiol.* 176, 2365–2375.
- Yamagishi, M. 2016. A novel R2R3-MYB transcription factor regulates light-mediated floral and vegetative anthocyanin pigmentation patterns in *Lilium regale*. *Mol. Breed.* 36, 3.
- Yamagishi, M. 2018. Involvement of a LhMYB18 transcription factor in large anthocyanin spot formation on the flower tepals of the Asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.) cultivar ‘Grand Cru’. *Mol. Breed.* 38, 60.
- Yamagishi, M. 2021. High promoter sequence variation in subgroup 6 members of R2R3-MYB genes is involved in different floral anthocyanin color patterns in *Lilium* spp. *Mol. Genet. Genomics* 296, 1005–1015.
- Yamagishi, M. 2022. High temperature enhances anthocyanin coloration in Asiatic hybrid lily flowers via upregulation of the MYB12 positive regulator. *Hort. Plant J.* 8, 769–776.
- Yamagishi, M. 2024. Mechanisms by which high temperatures suppress anthocyanin coloration in flowers and fruits, and discovery of floricultural crops that exhibit high-temperature-tolerant flower pigmentation. *Hort. J.* 93, 203–215.
- Yamagishi, M. and Sakai, M. 2020. The microRNA828/MYB12 module mediates bicolor pattern development in Asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.) flowers. *Front. Plant Sci.* 11, 590791.
- Yamagishi, M. *et al.* 2014. The novel allele of the LhMYB12 gene is involved in splatter-type spot formation on the flower tepals of Asiatic hybrid lilies (*Lilium* spp.). *New Phytol.* 201, 1009–1020.
- Yan, Y. *et al.* 2023. Light-mediated anthocyanin biosynthesis in rose petals involves a balanced regulatory module comprising transcription factors RhHY5, RhMYB114a, and RhMYB3b. *J. Exp. Bot.* 74, 5783–5804.
- Yuan, Y. *et al.* 2014. Transcriptional control of floral anthocyanin pigmentation in monkeyflowers (*Mimulus*). *New Phytol.* 204, 1013–1027.
- Yuan, Y. *et al.* 2013. Genetic dissection of a major anthocyanin QTL contributing to pollinator-mediated reproductive isolation between sister species of *Mimulus*. *Genetics* 194, 255–263.
- Zhang, S. *et al.* 2019. Transcriptome analysis revealed expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in eggplant (*Solanum melongena* L.) under high-temperature stress. *BMC Plant Biol.* 19, 387.
- Zhang, B. *et al.* 2020. Mdm-miR828 participates in the feedback loop to regulate anthocyanin accumulation in apple peel. *Front. Plant Sci.* 11, 608109.
- Zhao, X. *et al.* 2023. CsMYBL2 homologs modulate the light and temperature stress-regulated anthocyanin and catechins biosynthesis in tea plants (*Camellia sinensis*). *Plant J.* 115, 1051–1070.
- Zhou, H. *et al.* 2019. Activator-type R2R3-MYB genes induce a repressor-type R2R3-MYB gene to balance anthocyanin and proanthocyanidin accumulation. *New Phytol.* 221, 1919–1934.
- Zhou, L. *et al.* 2021. A novel transcription factor CmMYB012 inhibits flavone and anthocyanin biosynthesis in response to high temperatures in chrysanthemum. *Hort. Res.* 8, 248.
- Zipor, G. *et al.* 2015. In planta anthocyanin degradation by a vacuolar class III peroxidase in *Brunfelsia calycina* flowers. *New Phytol.* 205, 653–665.