

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20230809004

苹果类黄酮物质及其代谢调控研究进展

姚佳^{1#*}, 王佳傲^{1,2#}, 刁饶^{1,2}, 李驰¹

(1. 北京城市学院生物医药学部, 北京 100094; 2. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193)

摘要: 类黄酮是苹果中的主要多酚类物质, 具有抗氧化、消炎、抗病毒、治疗呼吸性疾病和免疫调节等广泛的生理作用, 是食品和医药领域研究的热点。苹果类黄酮物质的组成及含量因果实部位、品种、产地而异。苹果类黄酮合成主要通过苯丙烷代谢途径实现, 并受基因(包括转录因子)、酶和外界因素(光照、温度、激素等)的调控。由于代谢作用, 苹果类黄酮在果实发育、成熟和贮藏过程中也会发生明显的变化。本文从苹果中类黄酮物质的组成及含量、果实发育和采后类黄酮含量的变化、类黄酮物质的代谢调控 3 个方面综述了苹果类黄酮物质及其代谢调控的研究进展, 并从苹果种质资源的开发研究、类黄酮代谢数据库的构建、单体化合物和功能活性的关系等方面提出了展望, 以期苹果类黄酮的合成、功能研究和富含类黄酮的苹果新品种的选育提供参考。

关键词: 苹果; 类黄酮; 组成及含量; 代谢调控

Research progress on flavonoids and their metabolic regulation in apple

YAO Jia^{1#*}, WANG Jia-Ao^{1,2#}, DIAO Rao^{1,2}, LI Chi¹

(1. Department of Biomedicine, Beijing City University, Beijing 100094, China; 2. Institute of Agricultural Products Processing, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

ABSTRACT: Flavonoids are the main polyphenols in apples, which have a wide range of physiological effects, such as antioxidation, anti-inflammation, antiviral, treatment of respiratory diseases and immune regulation, which are the focus of research in the field of food and medicine. The composition and content of flavonoids in apple vary with fruit position, variety and producing area. Apple flavonoid metabolism is mainly realized through phenylpropane metabolism pathway, which is regulated by genes (including transcription factors), enzymes, and external factors (light, temperature, hormones, etc.). Due to the influence of metabolic response, the flavonoid content of apple fruit also changes significantly during development, ripening and storage. This paper reviewed the research progress of flavonoids and metabolic regulation in apple from the composition and content of flavonoids, the changes of flavonoid content in fruit development and postharvest, and the metabolism of flavonoids in apple, and put forward the prospects from the aspects of the development and research of apple germplasm resources, the construction of flavonoid metabolism database, and the relationship between monomeric compounds and functional activity, so as to provide a reference for the synthesis and functional study of apple flavonoids and the breeding of new flavonoid-rich apple varieties.

KEY WORDS: apple; flavonoids; composition and content; metabolic regulation

基金项目: 北京城市学院科研种子基金(KYZZ201901)

Fund: Supported by the Scientific Research Seed Fund of Beijing City University (KYZZ201901)

#姚佳、王佳傲为共同第一作者

#YAO-Jia and WANG Jia-Ao are Co-first Authors

*通信作者: 姚佳, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬生物活性物质、果蔬保鲜加工技术研究。E-mail: yjz2020@126.com

*Corresponding author: Yao Jia, Ph.D, Associate Professor, Beijing City University, No.6, Queen's Store South Road, Xibeiwang Town, Haidian District, Beijing 100094, China. E-mail: yjz2020@126.com

0 引言

苹果类黄酮是一类存在于苹果中的主要次生代谢产物,属于多酚类物质,具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌、消炎、镇痛、降压、降血脂等多方面的生物活性^[1]。类黄酮的主要骨架结构是 C₆-C₃-C₆,按照化学结构可分为 5 类,分别为黄烷醇、黄酮醇、花青苷、二氢查尔酮、二氢黄酮醇(图 1)。苹果类黄酮的组成和含量因品种和部位差异较大,其中果实中类黄酮的含量最高,占干重的 5%左右。在苹果发育和贮藏过程中,果皮和果肉中类黄酮的含量均呈下降趋势,而在成熟和贮藏期过程中保持相对稳定^[2]。类黄酮可减少食品中不稳定的自由基,延缓食品氧化速度,通过基因、酶等方式调控苹果中类黄酮含量是预防功能成分损失的重要研究方向。本文从苹果中类黄酮的组成及含量、果实发育和采后的类黄酮变化规律、类黄酮代谢调控

等方面综述了苹果中类黄酮的研究进展,并从苹果种质资源的开发研究、类黄酮代谢数据库的构建、单体化合物和功能活性的关系等方面提出展望,以期为该领域的深入研究提供参考依据。

1 苹果中类黄酮物质的组成及含量

苹果是我国居民从水果中获取类黄酮的重要途径之一,目前我国对苹果中类黄酮物质组成和含量的研究报道还相对较少。从 61 个苹果品种检出的类黄酮物质汇总为表 1,共 5 类 48 种,其中,黄烷醇物质 9 种,二氢查尔酮类 8 种,黄酮醇类 19 种,花青苷类 11 种,二氢查尔酮类 1 种。苹果是黄酮醇和黄烷醇的主要膳食来源,与草莓^[8]、葡萄^[9]、柑橘^[10]相比,已检测出的类黄酮物质还相对较少,未来可通过广泛靶向代谢组学深入挖掘和丰富苹果类黄酮的种类。

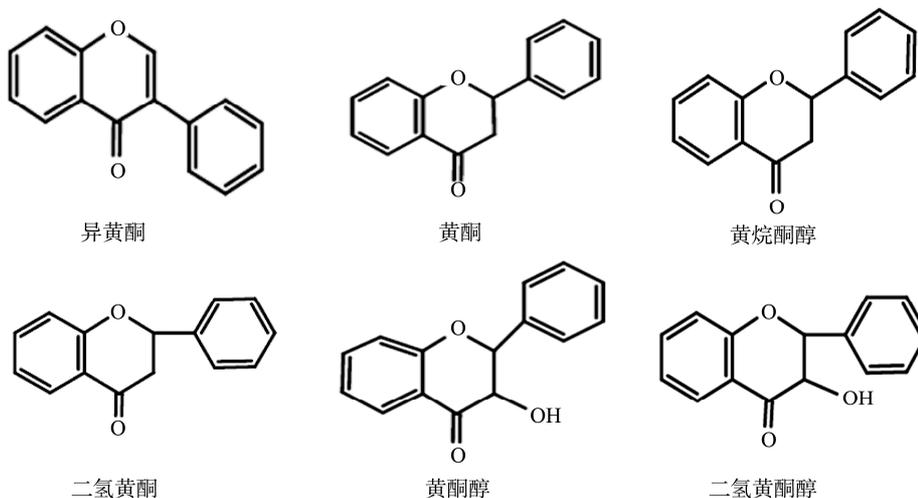


图 1 类黄酮物质的结构
Fig.1 Structures of flavonoids

表 1 目前已检测到的苹果类黄酮种类^[3-7]
Table 1 Species of apple flavonoids detected so far^[3-7]

类型	种类
黄烷醇	原花青素 B ₂ 、表儿茶素、黄烷醇 1、黄烷醇 2、黄烷醇 3、原花青素 B ₁ 、原花青素 B ₄ 、儿茶素、原花青素 C ₁
二氢查尔酮	根皮素糖苷 1、根皮素糖苷 2、3-羟根皮素、2'-木糖葡萄糖苷、根皮素-木糖葡萄糖苷、3-羟根皮素、2'-葡萄糖苷、根皮苷、根皮素-葡萄糖苷、根皮素-半乳糖苷
黄酮醇	槲皮素-芦丁糖苷、槲皮素-半乳糖苷、槲皮素-葡萄糖苷、槲皮素-木糖苷、槲皮素糖苷 1、槲皮素糖苷 2、槲皮素-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-呋喃阿拉伯糖苷、槲皮素-鼠李糖苷、槲皮素糖苷 3、槲皮素糖 4、槲皮素糖苷 5、槲皮素糖苷 6、槲皮素糖苷 7、槲皮素糖苷 8、芦丁、槲皮素阿拉伯糖苷、槲皮素木糖苷、山奈酚
花青苷	矢车菊素-3-O-半乳糖苷、矢车菊素-半乳糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-葡萄糖苷、矢车菊素-阿拉伯糖苷、矢车菊素糖苷 1、矢车菊素糖苷 2、矢车菊素糖苷 3、矢车菊素糖苷 4、矢车菊素糖苷 5、花色苷鼠李糖苷
二氢黄酮醇	二氢槲皮素

1.1 不同果实部位的苹果类黄酮

苹果的不同部位类黄酮物质组成及含量不同。表 2 总结了 15 种苹果果皮和果肉中类黄酮物质的种类。由表 2 可知, 果皮中的类黄酮种类较果肉丰富, 果皮中的类黄酮为 4 类 24 种, 而果肉中为 3 类 13 种。苹果类黄酮大多不以单体形式存在, 如在黄烷醇类中多以表儿茶素和原花青素聚合物形式存在。大量报道指出, 苹果果肉中不存在柚皮素和柚皮苷成分, 果皮有特有的花青苷类成分矢车菊素-半乳糖苷和矢车菊素-阿拉伯苷^[3,11-14], 苹果果皮的顏色主要由花青素决定。

果皮中类黄酮含量显著高于果肉, 且果皮中类黄酮的种类相较于果肉更加丰富。聂继云等^[3]研究发现‘长富 2 号’苹果的果皮和果肉类黄酮种类分别为 4 类 16 种和 3 类 11 种, 果皮中总类黄酮含量为 810.12~1304.59 mg/kg, 而果肉中总类黄酮含量仅有 79.87~124.88 mg/kg, 约占果皮中的 1/10, 且黄酮醇含量仅为果皮中的 0.1%~3.1%。ESCARPA 等^[15]通过高效液相色谱-二极管阵列检测法研究了 4 种苹果果皮与果肉中的类黄酮差异, 结果表明果皮中的类黄酮成分主要为儿茶素、黄酮醇苷及芦丁等物质, 且含量高于果肉。同样的结果在乔纳金苹果中也被发现, 其苹果果皮中根皮苷、类黄酮含量均显著高于果肉, 分别为果肉的 10 倍、2.5 倍^[16]。

1.2 不同品种和产地的苹果类黄酮

苹果所含类黄酮物质丰富且呈现多样性, 品种和产地是影响苹果类黄酮含量和组成差异的重要因素。聂继云等^[4]采用反相高效液相色谱法从 22 种苹果种质资源果实中检测到 34 种类黄酮成分, 总黄酮含量范围为 3654.6~24223.7 mg/kg, 主要单体化合物成分也表现出品种差异性, 如丽江山荆子、西府海棠、海棠花、扁棱海棠和冬红果所测黄烷醇含量最高, 达 1713.7~2764.9 mg/kg, 兴山湖北海棠、卢氏湖北海棠、平邑甜茶、雅江变叶海棠和樱桃叶海棠为高二氢查耳酮苹果种质资源, 二氢查耳酮含量高达 595.8~1077.5 mg/kg 等。同一产地不同品种苹果

类黄酮也具有一定的差异性, 刘畅等^[5]从东北地区 6 种小苹果果实中共检测到黄酮醇、黄烷醇、花色苷 3 类 12 种类黄酮成分, 总类黄酮含量为 91.84~169.36 mg/kg, 且儿茶素和表儿茶素含量各品种间差异明显, 与普通大果相比, 所测东北寒地小苹果果实的类黄酮种类含量均较少。许海峰等^[6]在新疆地区 4 种红肉苹果果实中检测到 3 类 11 种类黄酮成分, 其中槲皮素阿拉伯糖苷和槲皮素鼠李糖苷仅在红脆 1 号中存在, 且红脆 1 号类黄酮含量最高, 是含量最低品种紫红 2 号的 759 倍。不同产地同一品种苹果由于地理因素和生长环境不同, 类黄酮组成和含量也不同。冯娟^[17]研究了洛川、安塞、凤翔等 13 个产地富士苹果的类黄酮成分, 发现所测产地样品均可检测出儿茶素、芦丁、表儿茶素和根皮苷成分, 而槲皮素成分在盐源、洛川、凤翔、中宁、烟台 5 个产地中未检出, 儿茶素和表儿茶素含量最高的是盐源地区, 分别为 66.4 mg/kg 和 654.8 mg/kg。我国苹果属植物资源丰富, 今后有必要对中国国家苹果种质资源圃收集、保存的所有苹果品种资源开展果实类黄酮的研究, 以发现高类黄酮的和含特异类黄酮的苹果品种, 为苹果种质资源果实类黄酮的利用和高类黄酮苹果品种培育提供依据。

1.3 野生与栽培种的苹果类黄酮

全球苹果资源十分丰富, 中国的野生种苹果有 5 组, 7 系, 17 种, 2 亚种, 9 变种和 3 个变型。野生苹果在颜色、果重、品质风味及类黄酮物质组成和含量方面都具有较强的遗传优势, 是我国果树资源的天然基因库。目前对于苹果类黄酮的研究主要集中于栽培品, 而对于野生品种的研究还相对较少。有研究报道野生苹果与栽培苹果中类黄酮物质组成和含量差异显著, 野生苹果中类黄酮含量和组成均优于栽培品^[11]。何天明等^[7]研究了 25 株新疆野生苹果和 3 株栽培品种苹果果实中类黄酮的组成和含量, 结果表明表儿茶素含量最高的野生品种(1047.98 μg/g)是含量低的栽培品的 80 多倍, 野生种 GL026 (1032.75 μg/g)是已检测苹果中原花青素 B₂ 含量最高的夏立萌品种的近 50 倍。LIN 等^[18]对 292 种野生和栽培苹果进行全基因组代谢分析, 发现从

表 2 苹果果皮和果肉中类黄酮物质^[3,11-14]
Table 2 Flavonoids in apple peel and pulp^[3,11-14]

苹果部位	类型	类黄酮成分
果皮	黄烷醇	儿茶素、原花青素 B ₁ 、B ₂ 、表儿茶素、花青素
	二氢查尔酮	3-羟根皮素 2'-木糖葡萄糖苷、根皮素-木糖葡萄糖苷、3-羟根皮素 2'-葡萄糖苷、根皮苷、柚皮素、柚皮苷
	黄酮醇	芦丁、槲皮素-芦丁糖苷、槲皮素-半乳糖苷、槲皮素-葡萄糖苷、槲皮素-木糖苷、槲皮素-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-呋喃阿拉伯糖苷、槲皮素-鼠李糖苷、槲皮素 3-O-半乳糖苷、山奈酚
	花青苷	矢车菊素-半乳糖苷、矢车菊素-阿拉伯糖苷
	黄烷醇	原花青素 B ₂ 、表儿茶素
果肉	二氢查耳酮	3-羟根皮素、2'-木糖葡萄糖苷、根皮素-木糖葡萄糖苷、3-羟根皮素 2'-葡萄糖苷、根皮苷、根皮素
	黄酮醇	芦丁、槲皮素-半乳糖苷、槲皮素-葡萄糖苷、槲皮素-木糖苷、槲皮素-吡喃阿拉伯糖苷、槲皮素-鼠李糖苷

野生苹果过渡到栽培苹果,类黄酮等代谢物含量减少。由此可见,相较于栽培品种苹果,野生苹果中类黄酮资源更加丰富,运用现代基因工程技术,将野生品种的优异基因引入到栽培品种,对实现高含量类黄酮苹果品种的选育开发具有重要的意义,未来也应扩大挖掘新野生苹果资源以寻找类黄酮成分特异或含量高的种质资源。

2 苹果发育中和采后类黄酮的变化

2.1 苹果发育中类黄酮变化

在苹果果实生长发育过程中,类黄酮种类和含量存在动态变化,其含量一般在幼果期高于膨大期,并随着苹果的不断成熟而降低。周兰^[19]对丽江山荆子、八棱海棠、津轻、国庆品种的研究显示,津轻、八棱海棠、新疆野生苹果中的主要类黄酮物质(包括原花青素 B₁、原花青素 B₂、原花青素 C₁、儿茶素、表儿茶素、根皮苷等)在果实发育初期高于后期,而丽江山荆子品种类黄酮种类和含量不随果实的成熟度而发生变化,这是因为丽江山荆子随着果实成熟无明显膨大,而类黄酮的变化与果实是否膨大有关。BALDI 等^[20]对金冠苹果发育过程中的多酚物质组成含量进行了研究,发现单体儿茶素、表儿茶素及原花青素低聚物在苹果果实开花后早期开始积累。不同品种苹果在不同发育时期的类黄酮成分变化差异较大,金冠、罗德岛绿和恩派品种的表儿茶素、原花青素 B₂、根皮素苷在果实发育的早期阶段急剧下降,而在果实成熟期间保持相对稳定,斯普伦多和澳洲青苹中槲皮素糖苷和原花色素成分在果实发育早期到中期阶段逐渐下降,但在成熟期又有所增加,同时斯普伦多果实成熟过程中还合成了矢车菊素糖苷^[11]。未来在研究苹果类黄酮品种差异性的基础上,可进一步研究发育期的动态变化规律,提出基于类黄酮利用的果实最佳采摘时期。

2.2 苹果采后类黄酮变化

采后呼吸、能量及活性氧代谢反应是采后苹果类黄酮含量变化的重要原因^[21]。苹果采后储藏过程中类黄酮发生的复杂变化与储藏方式、时间、温度密切相关,一般储藏时间越长,温度越高,类黄酮含量下降越显著。SALAZAR-ORBEA 等^[22]研究了苹果果泥在 12 个月储藏期的类黄酮含量变化,发现随着储藏时间的延长,类黄酮含量呈现下降趋势,其中 24℃时黄酮醇降解率最高,并随温度升高降解率加快。BUTKEVICIUTE 等^[23]研究发现, Sampion 苹果果实储藏过程中异槲皮素含量下降了 21.1%~38.7%,康奈尔红苹果果实类黄酮下降最为显著, Amorosa 和 Santana 苹果皮样品中的芦丁在贮藏过程呈现下降趋势。赵迎丽等^[24]研究了红富士苹果冰温、0℃下贮藏 5 个月、7 个月分别移入不同温度货架的类黄酮含量变化,结果表明与 0℃贮藏相比,冰温贮藏 5 个月和 7 个月后果实类黄酮损失率降低 11.13%,由此可见冰温并未对果

实形成低温胁迫,反而会产生后续效应。为了降低采后苹果类黄酮的降解速率,目前可通过代谢调控的方式加以抑制。如 WANG 等^[25]通过套袋处理改变苹果果实的微环境,延缓类黄酮物质含量的降低。

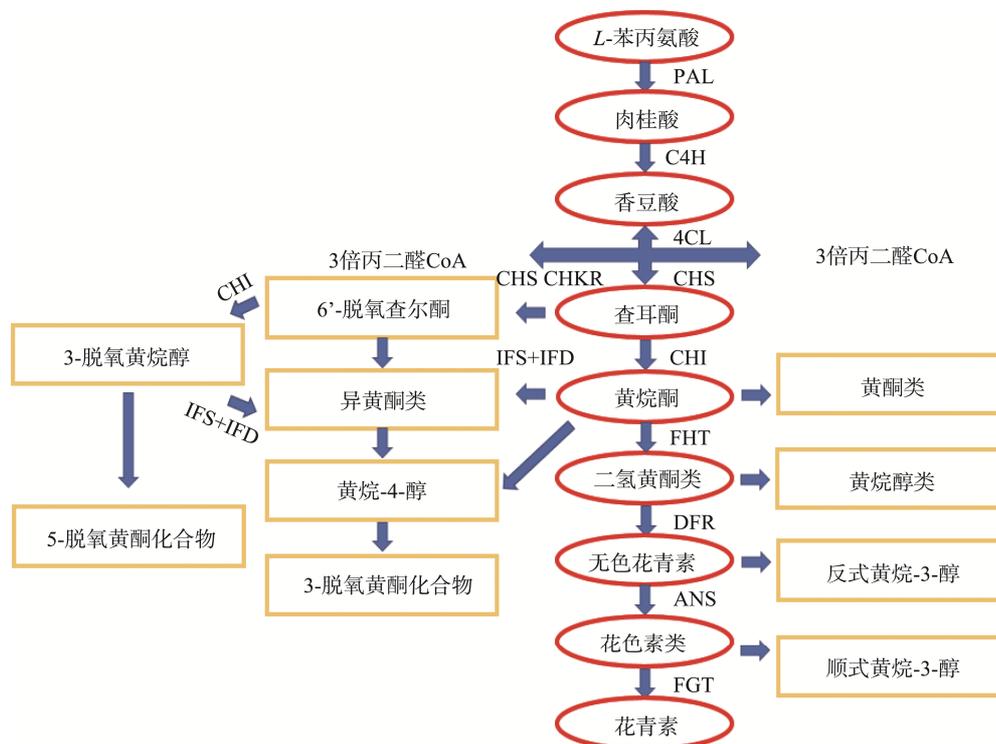
3 苹果中类黄酮物质的代谢调控

植物类黄酮生物合成途径在不同物种中具有高度的保守性,苯丙烷途径是类黄酮生物合成的主要途径,其关键步骤是 L-苯丙氨酸在苯丙氨酸解氨酶的催化下生成肉桂酸,再经过一系列复杂的代谢反应后最终生成花青素,这一途径在苹果、拟南芥、矮牵牛、葡萄等物种中均被很好的鉴定。另外,类黄酮合成还涉及许多其他的次生代谢途径,如黄酮代谢途径、萜类生物合成途径、淀粉和蔗糖代谢途径等,图 2 为类黄酮物质的主要代谢途径^[26]。

苹果类黄酮的生物合成具有时空特异性,不但受内部基因的调控,还要受外界因素的影响。基因调控由一系列结构基因(直接编码与类黄酮次生代谢有关的酶类)和调节基因(通过转录因子调控结构基因的表达)协同完成。结构基因编码催化合成途径中的关键酶,包括 PAL、CHS、CHI、黄酮醇 3-羟化酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H)、C4H、DFR、ANS 和 FGT 等,并受转录因子 MYB、bHLH、WD40 和 NAC 以及其他转录因子的调控^[27]。CHS、CHI、F3H、DFR 用于催化无色二氢黄酮醇早起步骤,ANS、FGT 通常催化生成花青素的后期步骤。目前与类黄酮生物合成相关的部分编码酶的作用基础已经阐明,但有些类黄酮合成的单个酶基因难以调控,需要多个结构基因共同作用,而共同作用机制尚不明确。由于类黄酮化合物的合成途径在植物中是保守的,所以光照、温度、激素等^[28]外界因素的不同也会改变许多酶的结构,从而影响类黄酮的合成,生成不同种类的类黄酮化合物。下面就基因和外界因素对苹果类黄酮合成代谢调控的研究进行总结分析,以期为苹果类黄酮的调控提供参考。

3.1 苹果类黄酮代谢的结构基因和酶调控

目前,有关苹果类黄酮结构基因调控的研究主要集中于花青素的生物合成调控。*MdGSTU12* 是从苹果基因组中鉴定出的 38 个 *GST* 基因之一,该基因与花青素变异密切相关,经功能鉴定和亚细胞定位证明该基因对苹果中花青素蓄积具有促进作用^[29]。*CitF3'H* 是细胞色素 P450 家族中一个基因,该基因能够合成 *F3'H* 酶,进而催化多类黄酮和柚皮素的合成。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是广泛存在于真核生物中的信号转导系统,在植物细胞响应环境胁迫的信号转导过程中发挥关键性作用。SUN 等^[30]在 MAPK 家族中筛选出一个 *MdMKK9* 基因,发现在低氮条件下的红肉苹果“大红”组培苗中,该基因上调了花青素的合成和氮转运相关基因的表达。WANG 等^[31]研究发现 *MdMYBL2* 过表达



注: 苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL); 肉桂酸 4-羟化酶(cinnamate 4-hydroxylase, C4H); 4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4-coumaric acid CoA ligase, 4CL); 查尔酮合酶(chalcone synthase, CHS); 查尔酮异构酶(chalcone isomerase, CHI); 黄酮醇羟化酶(flavanone hydroxylase, FHT); 二氢黄酮醇还原酶(dihydroflavonol-4-reductase, DFR); 花色苷合成酶(anthocyanidin synthase, ANS); 类黄酮糖基转移酶(flavonoid 3-O-glycosyltransferase, FGT); 异黄酮合成酶(isoflavone synthase, IFS); 异黄酮脱氢酶(isoflavone dehydratase, IFD)

图 2 类黄酮物质的代谢途径^[26]

Fig.2 Metabolic pathway of flavonoids^[26]

的红肉苹果花青素含量显著高于对照组, 认为 *MdMYBL2* 有助于调节红肉苹果愈伤组织的细胞分裂素, 从而诱导花青素合成。

结构基因中很大一部分是合成类黄酮代谢的主要酶, 如 *MdCHS*、*MdCHI*、*MdF3'H*、*MdDFR*、*MdANS*、*MdUFGT* 等。参与类黄酮代谢的酶种类众多, 提供了调控苹果类黄酮物质合成的大量途径。PAL 是研究苯丙烷类代谢途径最普遍的一种多基因编码酶类, 其作用是催化苯丙烷的代谢, 能够对苹果类黄酮的代谢发挥促进作用^[32]。王丽辉^[33]研究发现 PAL 被干扰后“新红星”苹果果皮花色苷合成显著下降, *CHI*、*DFR*、*ANS* 基因在套袋“新红星”苹果摘袋后基因表达量升高并与苹果中花青苷呈现正相关。*DFR* 是存在于花色苷代谢途径下游的一种酶, 在苹果类黄酮代谢过程中发挥正相关作用, 其表达被干扰后, 苹果的黄酮醇和花色苷含量显著下降。*CHI* 和 *ANS* 是类黄酮化合物合成途径下游的两种关键酶, *CHI* 被干扰后会阻碍黄酮醇和花色苷的积累, *ANS* 被干扰后表儿茶素含量显著下降。除了类黄酮代谢途径上的酶类, 也有一些酶类能够调控类黄酮的合成, 如细胞色素 P450s (cytochrome p450s, CYPs)^[34]、类黄酮 3'-羟化酶(flavonoid 3'-hydroxylase, F3'H)^[35]、谷胱甘肽 S 转移

酶(glutathione S transferase, GSTs)等, 不同植物来源的酶催化特性可能存在差异, 并对类黄酮的生物合成产生重要影响, 而目前这些酶在苹果类黄酮的调控研究还相对较少。

综上, 目前研究者大多仅关注与类黄酮代谢途径相关酶的调控, 但对其上游的碳流代谢及能量分配、下游物质流向的综合研究涉及较少。深入探讨苹果类黄酮代谢的基因调控机制, 有助于利用基因工程技术优化苹果类黄酮代谢途径, 提高苹果类黄酮的含量, 在人体健康、医药创新、工业生产等方面具有广泛的应用前景。

3.2 苹果类黄酮代谢的转录因子调控

苹果类黄酮化合物的合成不仅需要结构基因, 还需要转录因子的协同作用。转录因子能够单独调控苹果类黄酮合成, 也能彼此形成复合体协同调控, 达到促进类黄酮合成的目的。目前对于苹果转录因子代谢研究主要以调控花青素和原花青素的合成为主。*MYB* 转录因子是目前发现存在于植物中的最大转录因子家族之一, 在植物花青素积累的调控中发挥着重要作用^[36]。*bHLH* 家族是仅次于 *MYB* 转录因子的第二大家族, 其与 *MYB* 的协同作用也是目前苹果代谢研究的热点。*JIANG* 等^[37]研究发现苹果 *MdMYB114* 与 *MdbHLH3/33* 基因复合体对植物生长发育有

重要作用,可积极调节苹果中花青素的合成。TIAN 等^[38]通过分析 231 个苹果原料指出 *MYB* 基因中等位基因的特异性表达和苹果花瓣中花青素的蓄积具有正相关性。AN 等^[39]研究发现苹果 *MYB* 转录因子 *MdbHLH33* 可激活 *MdCBF2* 和 *MdDFR* 的表达,是花青素积累的正向调节因子。*MdMYB1* 启动子的甲基化已被报道为花青素途径的调节因子,对花青素和原花青素的积累起着重要作用。JIANG 等^[40]研究发现 *MdMYB1* 位点通过 *MdAGO4s* 与 *MdMYB1* 启动子结合而被甲基化,进而通过 RNA 指导的 DNA 甲基化 (RdDM) 途径调节花青素的生物合成。SU 等^[41]研究发现过表达的转录因子 *MdJa2* 抑制花青素和原花青素的合成。

以上关于苹果类黄酮合成代谢中的结构基因和调节基因的研究,大部分还停留在类黄酮合成与单个功能基因与转录因子的相关性分析,而由于类黄酮代谢合成的复杂性,基因表达的成簇性,对结构基因和部分转录因子在代谢调控中的具体作用还需进一步深入,也需研究各调节基因之间的关系阐明调控的分子机制。

3.3 苹果类黄酮代谢的外界因子调控

苹果类黄酮的合成和积累也受外界因子的影响,适宜的外环境条件能够促进类黄酮的合成。目前调控苹果类黄酮合成的外界因子主要包括光照、温度、激素等,这些因子主要通过调节花青素合成途径中的相关结构基因的表达或通过调控一些调节因子来调控花青素的合成。

在自然条件下,因果实受到阳光辐射强度的差异,导致类黄酮合成调控中起重要作用的结构基因有所不同。例如,在低阳光强度下,苹果皮中花青素的合成受到底物矢车菊素供应的限制,而矢车菊素供应受 *DFR* 活性的调控,在高阳光强度下,苹果皮中产生的花青素依赖于 *FGT* 的活性^[42]。MA 等^[43]研究发现苹果中乙烯转录因子 *ERF* 家族基因成员 *MdERF109* 在光处理的早期阶段被明显诱导,表明花青素积累与 *MdERF109* 转录水平密切相关。FANG 等^[44]研究发现苹果中 *BBX20* 基因可通过响应紫外线 B 波 (ultraviolet-B, UV-B) 促进苹果果皮花青素的合成。

低温可以促进苹果中类黄酮代谢途径中酶的活性,进而促进类黄酮物质的积累。王济瀚^[45]研究发现冷藏期间富士苹果总黄酮含量的升高减轻了组织褐变的发生。WANG 等^[46]通过原花青素特异性转录因子 *MdMYBPA1* 启动野生红肉苹果的花青素合成,发现低温胁迫下 *MdMYBPA1* 和 *MdbHLH33* 协同表达使愈伤组织产生了更多的花青素。

目前调控苹果类黄酮的激素有 1-甲基环丙烷(1-methyl cyclopropane, 1-MCP)、水杨酸、褪黑素、2,4-二氯苯氧乙酸等,研究最多的是 1-MCP,它是一种乙烯受体的竞争性抑制剂,能够促进类黄酮的合成。1-MCP 与乙烯受体结合后,可将富士苹果贮藏时间延长 9 个月,且原花青素含量受 1-MCP 调控而上调^[47]。KRUPA 等^[48]研究也发现红帽苹

果在 1-MCP 处理后黄酮醇含量高于未处理组。

4 结束语

(1)野生苹果中的类黄酮种类多样且含量较栽培苹果更高,但目前对于野生苹果中类黄酮的研究仍然较少,未来有必要进一步对野生苹果种质资源开展果实类黄酮研究,构建杂种优势群体,探讨其性状遗传与类黄酮代谢机制,以发现高类黄酮的和含特异类黄酮的品种,为苹果栽培品种的选育提供理论指导。

(2)近年来对于植物类黄酮代谢的研究不断深入,但对于苹果类黄酮合成酶及其代谢研究仍相对较少。目前对于苹果中类黄酮代谢的研究仅仅集中在果皮调色方面,如脱落酸、褪黑素等植物激素对花青素代谢调控的影响研究,但植物激素调控苹果类黄酮的代谢机制仍需进一步阐明。未来仍需在苹果类黄酮合成和代谢酶的系统研究和构建苹果中类黄酮物质的代谢数据库上加大研究力度。

(3)众多研究表明类黄酮化合物具有一定的抗氧化、抗炎、抗癌等活性,但类黄酮单一成分的活性及其作用机制研究还相对较少,可关注类黄酮子类结构与功能活性之间的关系,为类黄酮的营养学和药理学研究提供理论支持,并为苹果类黄酮在药品或保健品中的应用提供科学依据。

综上所述,加强苹果中类黄酮物质组成、代谢相关酶、基因及转录因子的研究,对提高苹果类黄酮含量和苹果种质育种具有重要的意义。从生物学方面深入研究苹果类黄酮的代谢调控机制,可为高类黄酮品种的苹果育种和类黄酮的生物合成奠定理论基础。

参考文献

- [1] FIDELESSOM, ORTIZ ADC, BUCHAIM DV, *et al.* Influence of the neuroprotective properties of quercetin on regeneration and functional recovery of the nervous system [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(1): 149-149.
- [2] ESPLEY RV, LEIF D, PLUNKETT B, *et al.* Red to brown: An elevated anthocyanic response in apple drives ethylene to advance maturity and fruit flesh browning [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1248.
- [3] 聂继云, 吕德国, 李静, 等. ‘长富 2 号’苹果果实类黄酮组成和含量研究[J]. *园艺学报*, 2010, 37(10): 1559-1566.
NIE JY, LV DG, LI J, *et al.* Studies on the composition and content of flavonoids in apple fruits of ‘Changfu 2’ [J]. *Hortic Plant J*, 2010, 37(10): 1559-1566.
- [4] 聂继云, 吕德国, 李静, 等. 22 种苹果种质资源果实类黄酮分析[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(21): 4455-4462.
NIE JY, LV DG, LI J, *et al.* Analysis of flavonoids in fruits of 22 apple germplasm resources [J]. *China Agric Sci*, 2010, 43(21): 4455-4462.
- [5] 刘畅, 赵继荣, 王昆, 等. 东北地区不同苹果果实的类黄酮组分及含量分析[J]. *中国林副特产*, 2020, (5): 25-28.
LIU C, ZHAO JR, WANG K, *et al.* Analysis of flavonoid components and contents of different apple fruits in Northeast China [J]. *Forest By-prod Spec China*, 2020, (5): 25-28.

- [6] 许海峰, 王楠, 姜生辉, 等. 新疆红肉苹果杂种一代4个株系类黄酮含量及其合成相关基因表达分析[J]. 中国农业科学, 2016, 49(16): 3174–3187.
XU HF, WANG N, JIANG SH, *et al.* Analysis on the content of flavonoids and the expression of genes related to synthesis of four hybrids of red meat apple in Xinjiang [J]. *China Agric Sci*, 2016, 49(16): 3174–3187.
- [7] 何天明, 倪蔚茹, 刘青, 等. 新疆野苹果果肉类黄酮种类及含量分析[J]. 山东农业科学, 2017, 49(3): 46–51.
HE TM, NI WR, LIU Q, *et al.* Analysis on the species and content of flavonoids in the meat of wild apple fruit in Xinjiang [J]. *Shandong Agric Sci*, 2017, 49(3): 46–51.
- [8] WANG XL, WU LX, QIU J, *et al.* Comparative metabolomic analysis of the nutritional aspects from ten cultivars of the strawberry fruit [J]. *Foods*, 2023, 12(6): 1153–1153.
- [9] CHENG G, ZHOU SH, LIU JB *et al.* Widely targeted metabolomics provides new insights into the flavonoid metabolism in ‘Kyoho’ grapes under a two-crop-a-year cultivation system [J]. *Horticulturae*, 2023, 9(2): 154.
- [10] MUHAMMAD JR, FENG BH, MUHAMMAD HA, *et al.* LC-MS/MS-based metabolomics approach identified novel antioxidant flavonoids associated with drought tolerance in citrus species [J]. *Front Plant Sci*, 2023, 8(14): 1150854.
- [11] 聂继云, 吕德国, 李静, 等. 苹果果实中类黄酮化合物的研究进展[J]. 园艺学报, 2009, 36(9): 1390–1397.
NIE JY, LV DG, LI J, *et al.* Research progress of flavonoids in apple fruit [J]. *Hortic Plant J*, 2009, 36(9): 1390–1397.
- [12] ORAS A, AKAGIĆ A, SPAHO N, *et al.* Distribution and stability of polyphenols in juices made from traditional apple cultivars grown in Bosnia and Herzegovina [J]. *Molecules*, 2022, 28(1): 230.
- [13] MALEEHA M, FAROOQ A, NAZAMID S, *et al.* Variations of antioxidant characteristics and mineral contents in pulp and peel of different apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars from Pakistan [J]. *Molecules*, 2012, 17(1): 390–407.
- [14] FOTIRIĆ AM, DABIĆ ZD, GAŠIĆ U, *et al.* Analysis of apple fruit (*Malus×Domestica* Borkh.) quality attributes obtained from organic and integrated production systems [J]. *Sustainability*, 2022, 14(9): 5300.
- [15] ESCARPA A, GONZÁLEZ MC. High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 823(1): 331–337.
- [16] 班清风. ‘乔纳金’苹果采后酚类物质变化规律研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.
BAN QF. Study on the changes of phenols in postharvest ‘Jonagin’ apple [D]. Tai’an: Shandong Agricultural University, 2017.
- [17] 冯娟. 不同产地富士苹果果实品质分析与比较[D]. 银川: 宁夏大学, 2013.
FENG J. Analysis and comparison of fruit quality of Fuji apple from different producing areas [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2013.
- [18] LIN Q, CHEN J, LIU X, *et al.* A metabolic perspective of selection for fruit quality related to apple domestication and improvement [J]. *Genome Biol*, 2023, 24(1): 95.
- [19] 周兰. 苹果果实发育中类黄酮含量变化及相关基因的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
ZHOU L. Studies on the changes of flavonoid content and related genes during apple fruit development [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.
- [20] BALDI P, MOSER M, BRILLI M, *et al.* Fine-tuning of the flavonoid and monolignol pathways during apple early fruit development [J]. *Planta*, 2017, 245(5): 1021–1035.
- [21] 唐建新, 王佳莉, 英丽美, 等. 果蔬采后生理代谢变化及调控机制研究进展[J]. 包装工程, 2022, 43(5): 91–99.
TANG JX, WANG JL, YING LM, *et al.* Research progress on physiological metabolism changes and regulation mechanism of postharvest fruits and vegetables [J]. *Package Eng*, 2022, 43(5): 91–99.
- [22] SALAZAR-ORBEA GL, GARCÍA VR, BERNAL MJ, *et al.* Stability of phenolic compounds in apple and strawberry: Effect of different processing techniques in industrial set up [J]. *Food Chem*, 2022, 401: 134099–134099.
- [23] BUTKEVICIUTE A, VISKELIS J, LIAUDANSKAS M, *et al.* Impact of storage controlled atmosphere on the apple phenolic acids, flavonoids, and anthocyanins and antioxidant activity *in vitro* [J]. *Plants*, 2022, 11(2): 201–201.
- [24] 赵迎丽, 张微, 张立新, 等. 不同货架温度对冰温贮藏红富士苹果品质的影响[J]. 农产品加工, 2021, (17): 22–26.
ZHAO YL, ZHANG W, ZHANG LX *et al.* Effect of different shelf temperature on the quality of red Fuji apple stored at ice temperature [J]. *Farm Prod Process*, 2021, (17): 22–26.
- [25] WANG H, WANG S, FAN M, *et al.* Metabolomic insights into the browning of the peel of bagging ‘rui xue’ apple fruit [J]. *BMC Plant Biol*, 2021, 21(1): 209.
- [26] 朱三明, 郑敏敏, 田恬, 等. 植物次生代谢途径与调控研究进展[J]. 植物生理学报, 2023, 59(12): 2188–2216.
ZHU SM, ZHENG MM, TIAN T, *et al.* Research progress on plant secondary metabolic pathways and regulation [J]. *Plant Physiol J*, 2023, 59(12): 2188–2216.
- [27] 宋建辉, 郭长奎, 石敏. 植物花青素生物合成及调控[J]. 分子植物育种, 2021, 19(11): 3612–3620.
SONG JH, GUO CK, SHI M. Plant anthocyanin biosynthesis and its regulation [J]. *Mol Plant B*, 2021, 19(11): 3612–3620.
- [28] 赵莹, 杨欣宇, 赵晓丹, 等. 植物类黄酮化合物生物合成调控研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(21): 454–463.
ZHAO Y, YANG XY, ZHAO XD, *et al.* Advances in biosynthesis regulation of plant flavonoids [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(21): 454–463.
- [29] ZHAO YW, WANG CK, HUANG XY, *et al.* Genome-wide analysis of the glutathione S-transferase (GST) genes and functional identification of *MdGSTU12* reveals the involvement in the regulation of anthocyanin accumulation in apple [J]. *Genes*, 2021, 12(11): 1733.
- [30] SUN XH, LI XX, WANG YB, *et al.* *MdMCK9*-mediated the regulation of anthocyanin synthesis in red-fleshed apple in response to different nitrogen signals [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7755.
- [31] WANG YC, SUN JJ, WANG NX, *et al.* *MdMYBL2* helps regulate cytokinin-induced anthocyanin biosynthesis in red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*) callus [J]. *Funct Plant Biol: FPB*, 2019, 46(2): 187–196.
- [32] FAN LJ, SHI GF, YANG J, *et al.* A protective role of phenylalanine

- ammonia-lyase from *Astragalus membranaceus* against saline-alkali stress [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 15685–15686.
- [33] 王丽辉. 苹果果皮花色苷代谢及相关基因调控的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- WANG LH. Studies on anthocyanin metabolism and related gene eegulation in Apple Pericarp [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
- [34] SETHI A, BHANDAWAT A, PATI PK. Engineering medicinal plant-derived CYPs: A promising strategy for production of high-valued secondary metabolites [J]. *Planta*, 2022, 256(6): 119–119.
- [35] 侯杰, 佟玲, 崔国新, 等. 植物类黄酮 3'-羟化酶(*F3'H*)基因的研究进展[J]. *植物生理学报*, 2011, 47(7): 641–647.
- HOU J, TONG L, CUI GX, *et al.* Research advances of plant flavonoid 3'-hydroxylase (*F3'H*) gene [J]. *Plant Physiol J*, 2011, 47 (7): 641–647.
- [36] 花扬, 吕昕羽, 张瑜, 等. 桃 *MYB* 转录因子调控花青素合成的研究进展 [J]. *现代农业科技*, 2022, (21): 75–79.
- HUA Y, LV XY, ZHANG Y. Advances in the regulation of anthocyanin synthesis by *MYB* transcription factors in peach [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2022, (21): 75–79.
- [37] JIANG SH, SUN QG, ZHANG TL, *et al.* *MdMYB114* regulates anthocyanin biosynthesis and functions downstream of MdbZIP4-like in apple fruit [J]. *J Plant Physiol*, 2021, 257: 153353.
- [38] TIAN Y, THRIMAWITHANA A, DING TY, *et al.* Transposon insertions regulate genome-wide allele-specific expression and underpin flower colour variations in apple (*Malus spp.*) [J]. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20(7): 1285–1297.
- [39] AN JP, WANG XF, ZHANG XW, *et al.* An apple MYB transcription factor regulates cold tolerance and anthocyanin accumulation and undergoes *MIEL1*-mediated degradation [J]. *Plant Biotechnol J*, 2020, 18(2): 337–353.
- [40] JIANG SH, WANG N, CHEN M, *et al.* Methylation of *MdMYB1* locus mediated by RdDM pathway regulates anthocyanin biosynthesis in apple [J]. *Plant Biotechnol J*, 2020, 18(8): 1736–1748.
- [41] SU MY, WANG S, LIU WJ, *et al.* *MdJa2* participates in the brassinosteroid signaling pathway to regulate the synthesis of anthocyanin and proanthocyanidin in red-fleshed apple [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 830349.
- [42] CHEN WF, ZHANG MX, ZHANG G, *et al.* Differential regulation of anthocyanin synthesis in apple peel under different sunlight intensities [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 6060.
- [43] MA HY, YANG T, LI Y, *et al.* The long noncoding RNA *MdLNC499* bridges *MdWRKY1* and *MdERF109* function to regulate early-stage light-induced anthocyanin accumulation in apple fruit [J]. *Plant Cell*, 2021, 33(10): 3309–3330.
- [44] FANG HC, DONG YH, YUE XX, *et al.* The B-box zinc finger protein MdBBX20 integrates anthocyanin accumulation in response to ultraviolet radiation and low temperature [J]. *Plant Cell Environ*, 2019, 42(7): 2090–2104.
- [45] 王济瀚. 富士苹果冷藏期间果肉褐变的生理机制[D]. 淄博: 山东理工大学, 2023.
- WANG JH. Physiological mechanism of flesh browning in 'Fuji' apple fruit during cold storage [D]. Zibo: Shandong University of Technology, 2023.
- [46] WANG N, QU CZ, JIANG SH. *et al.* The proanthocyanidin-specific transcription factor *MdMYBPA1* initiates anthocyanin synthesis under low-temperature conditions in red-fleshed apples [J]. *Plant J*, 2018, 96(1): 39–55.
- [47] PENG ZZ, FU DQ. Effects of 1-methylcyclopropene treatment on the quality of red 'Fuji' apples fruit during short-term storage [J]. *Food Qual Saf*, 2022, (7): 1–12.
- [48] KRUPA T, ZARAS-JANUSZKIEWICZ E, KISTECHOK A. Influence of 1-methylcyclopropene on the antioxidants of 'Red Cap' apples during transportation and shelf life [J]. *Agronomy*, 2021, 11(2): 341.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



姚佳, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬生物活性物质、果蔬保鲜加工技术研究。
E-mail: yjz12020@126.com



王佳傲, 硕士研究生, 主要研究方向为果蔬生物活性物质研究。
E-mail: 17610551873@126.com