

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2017.60932

冯琛, 汤浩茹, 江雷雨, 王小蓉, 陈清, 孙勃. 苹果类胡萝卜素研究进展[J]. 植物科学学报, 2017, 35(6): 932~939

Feng C, Tang HR, Jiang LY, Wang XR, Chen Q, Sun B. Advances in studies on carotenoids in *Malus pumila* [J]. *Plant Science Journal*, 2017, 35(6): 932~939

苹果类胡萝卜素研究进展

冯琛¹, 汤浩茹^{1,2*}, 江雷雨¹, 王小蓉^{1,2}, 陈清¹, 孙勃¹

(1. 四川农业大学园艺学院, 四川成都 611130; 2. 四川农业大学果蔬研究所, 四川成都 611130)

摘要:类胡萝卜素是苹果果实色泽形成的一个重要影响因子,其种类和含量决定果实是否具有良好的外观和丰富的营养。本文综述了近年来有关苹果果实类胡萝卜素方面的研究进展,并对苹果类胡萝卜素的种类和含量,苹果发育和贮藏过程中类胡萝卜素含量的变化规律,生物合成途径中相关基因的表达,以及环境因子对类胡萝卜素积累的影响等方面进行了阐述。

关键词:苹果;类胡萝卜素;合成调控;色泽

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2017)06-0932-08

Advances in studies on carotenoids in *Malus pumila*

Feng Chen¹, Tang Hao-Ru^{1,2*}, Jiang Lei-Yu¹, Wang Xiao-Rong^{1,2}, Chen Qing¹, Sun Bo¹

(1. College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Institute of Pomology and Olericulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Carotenoids are important components responsible for the coloration of apples, with both the composition and content of carotenoids deciding fruit appearance and nutritional value. We reviewed the recent advances in the study of carotenoids in apples, including carotenoid content and composition, changes during fruit development and storage, genes and enzymes involved in the carotenoid biosynthetic pathway, and the relationship between environmental factors and accumulation of carotenoids. The regulatory mechanism of the carotenoid biosynthesis pathway in the apple remains to be further studied.

Key words: *Malus pumila*; Carotenoids; Biosynthesis and regulation; Coloration

色泽是果品质评价中一个重要的感官指标,而类胡萝卜素在果实色泽的形成过程中起至关重要的作用^[1]。研究发现,自然界有800多种天然类胡萝卜素,普遍存在于植物的叶、花及果实等器官中^[2],少量存在于真菌、藻类、细菌及少数动物体内^[3]。类胡萝卜素具有多个共轭双键,主要吸收400~500 nm内的光,因此,植物组织内类胡萝卜素的积累能够使植物不同部位呈现出黄到红的颜色^[4,5]。类胡萝卜素具有不同的生物活性功能。在植物中,类胡萝卜素主要存在于叶绿体以及花和果实的有色体内,参与光合作用中的光吸收及光形

态建成过程^[6,7],也参与植物对外界刺激的响应^[8];同时,类胡萝卜素还可以作为植物激素脱落酸等的前体物质,参与其合成代谢过程^[9]。研究发现,类胡萝卜素具有抗氧化活性,具有增强免疫力、预防心血管疾病以及防癌等功效^[11],如广泛存在于柑橘(*Citrus reticulata* Blanco.)、胡萝卜(*Daucus carota* L. var. *sativa* Hoffm.)等橘黄色水果及蔬菜中的β-胡萝卜素是维生素A重要的前体物质^[12]。

苹果(*Malus pumila* Mill.)是蔷薇科中经济价值较高的植物。我国是世界苹果生产第一大国,无

收稿日期: 2017-05-02, 退修日期: 2017-06-22。

作者简介: 冯琛(1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向为果树分子生物学(E-mail: fengchensicau@163.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: htang@sicau.edu.cn)。

论栽培面积还是产量均居世界第一位。苹果果实口感丰富, 果实富含类胡萝卜素、花青苷等生物活性物质, 深受人们喜爱。有关苹果色素的研究多集中于花青苷^[1,13,14], 而类胡萝卜素方面的研究涉及较少。本文从苹果类胡萝卜素的种类、含量, 合成途径中相关基因, 环境因子对类胡萝卜素代谢的影响等方面的研究进展予以综述, 以期为苹果果实着色研究奠定理论基础。

1 苹果中类胡萝卜素的种类及含量

果实色泽主要是由果皮中的叶绿素、类胡萝卜素以及花青苷这3类色素决定, 他们的含量与比例决定了颜色的不同^[15]。苹果果色的形成由底色和表色共同决定, 大部分果实幼果期的底色为绿色, 随着果实逐渐发育而呈现出白色、淡黄色等颜色; 与此同时果实的表色也逐渐呈现, 在底色与表色共同作用下最终形成具有不同色泽的果实, 如红色的‘富士’、黄色的‘金帅’、绿色的‘澳洲青苹’等。研究发现, 绿色和黄色苹果品种的基本色调分别由叶绿素和类胡萝卜素决定, 果皮中均含有少量的花青素^[16,17]。对于红色品种, 其叶绿素和类胡萝卜素含量差别较小, 而花青素的含量决定了红色的深浅程度^[14]。

类胡萝卜素的种类较多, 不同种或品种的苹果中类胡萝卜素含量与种类都存在差异。如苹果品种‘东北黄海棠’(成熟果实为黄色)、‘冬红果’(成熟果实为红色)和‘早白海棠’(成熟果实为淡黄色), 3个品种果实发育过程中果皮类胡萝卜素含量总体呈现下降的趋势^[18], 这与‘鲁加’系列^[19]、‘烟富6’^[20]、‘富士’^[21]等的变化趋势一致。‘东北黄海棠’在成熟期果皮的类胡萝卜素含量略有上升, 与‘嘎拉’^[20]、‘新红星’^[22]趋势一致, 且该品种在3者中类胡萝卜素含量最高。为了研究不同颜色的苹果品种中类胡萝卜素种类的差异, Delgado-Pelayo等^[23]对4个绿色品种(‘澳洲青苹’、‘Green Doncella’、‘Green Golden Delicious’及‘Reina de Reineta’), 3个黄色及黄绿色品种(‘Golden Montaña’、‘金帅’、‘Golden Rosett’)及6个红色品种(‘Ariane’、‘意大利富士’、‘法国富士’、‘粉红佳人’、‘皇家嘎啦’、‘红星’)进行了分析, 发现红色品种‘意大利富士’、‘法国富士’和‘粉红佳人’中检测出的类胡萝

卜素种类高达13种, 主要为叶黄素、紫黄素及β-胡萝卜素; 绿色品种中则只有‘Green Doncella’检测出13种, 主要为叶黄素和β-胡萝卜素; 而黄色品种中只有‘Golden Rosett’检测到12种, 以叶黄素、紫黄素及β-胡萝卜素居多。研究结果说明, 叶黄素相对于其他种类的类胡萝卜素在苹果果实发育过程中可能是稳定存在的。这13个不同颜色的苹果品种, ‘澳洲青苹’全反式叶黄素含量最高, 其余12个品种均是双酯化叶黄素含量最高。此研究还对果肉的类胡萝卜素种类进行了检测, 发现果肉中的类胡萝卜素无论是种类还是含量均比果皮中少, 这与Ampomah-Dwamena等^[24]在苹果品种‘Malling M9’中的研究结果相似。

2 苹果果实发育和贮藏过程中类胡萝卜素含量的变化

苹果果实在发育过程中类胡萝卜素的含量会随之发生变化, 且不同品种间会有一定差异。苹果品种‘秦冠’和‘富士’的类胡萝卜素含量在果实成熟过程中均呈现出先升后降的趋势, 在果实贮运成熟期含量达到最大值, 之后逐渐下降。‘秦冠’中类胡萝卜素的含量始终高于‘富士’, 且差异达到显著水平, 差异最大时可达62.17%^[1]。‘丽嘎’、‘皇家嘎拉’以及‘长富2号’3个品种在果实发育期类胡萝卜素的含量逐渐减少; 在采收前期, ‘丽嘎’和‘皇家嘎拉’2个品种中的类胡萝卜素几乎检测不到, 而‘天红1号’则呈现出“降-升-降”的变化趋势^[25]。新疆红肉苹果(*M. sieversii* f. *neidzwetzkyana* (Dieck) Langenf.)花后2周时, 类胡萝卜素含量最高, 随着果实不断发育, 其含量呈现出先降低后升高的趋势; 在花后第6周时类胡萝卜素含量最低, 到果实成熟前含量缓慢增长^[26]。绿色品种‘澳洲青苹’的类胡萝卜素含量在果实发育过程中变化不显著, 这可能是由于果实中叶绿素含量偏多造成^[17]。

不同的贮藏方式对苹果果实积累类胡萝卜素的影响也具有一定差异。李季芳^[27]以‘红富士’为试材研究发现, 与0℃贮藏条件相比, 20℃贮藏条件下类胡萝卜素含量上升幅度较大, 而0℃下变化较为缓慢, 且两者间差异显著。苹果果实采用自发气调包装(Modified atmosphere packaging, MAP)后进行冷藏, 果实类胡萝卜素含量呈现逐渐升高的

趋势, 表明 MAP 贮藏方式能够延缓果皮中类胡萝卜素的积累。1-甲基环丙烯(1-MCP)的处理结果表明该处理下类胡萝卜素的含量积累缓慢。使用浓度为 2×10^{-3} mol/L 的茉莉酸甲酯(Methyl jasmonate, MeJA)浸泡采摘的苹果时, 发现‘新红星’果实中的类胡萝卜素吸收光谱在 400 nm 之前稍高于对照, 表明 MeJA 促进组织中类胡萝卜素含量的增加主要是增加了吸收值低于 400 nm 某些类胡萝卜素的含量^[28]。高太阳辐射光处理低温贮藏的苹果, 随着褐斑程度的不断增加, 类胡萝卜素的含量不断增加, 这可能与其在光形态建成中的保护作用有关^[29]。

3 苹果类胡萝卜素代谢与调控途径相关基因的研究

3.1 类胡萝卜素的合成与降解

植物中类胡萝卜素的代谢途径已经比较清晰, 许多关键酶基因的功能也逐渐得到验证。苹果中相关研究多集中在不同处理下类胡萝卜素含量的变化及不同组分测定等方面, 有关代谢途径相关基因的克隆及功能验证的研究还相对较少。

八氢番茄红素合成酶(Phytoene synthase, PSY)是类胡萝卜素合成通路的第一个关键酶, 同时也是重要的限速酶, 它能够催化两分子的牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(GGPP)缩合形成无色的八氢番茄红素^[30]。目前, 已经在拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L. Heynh.)^[31]、番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)^[32]等多种植物中分离出 PSY 基因, 且不同种类的植物有不同数量的 PSY, 如拟南芥中有 1 个^[31]、烟草(*Nicotiana tabacum* L.)中有 2 个^[33]、番茄中有 3 个^[32]。张小军等^[17]从‘澳洲青苹’中克隆得到了 1 条 PSY 基因序列 *MdPSY*, 利用农杆菌介导法获得了转基因番茄植株, 并通过 qPCR 的方法对不同组织中类胡萝卜素合成相关基因的表达量进行了分析, 结果发现, 转基因番茄的根、茎和叶中基因的相对表达量与对照各组织中相对表达量比均有一定的变化, 说明该基因的过量表达能够从一定程度上影响番茄植株内源类胡萝卜素生物合成相关基因的表达。Ampomah-Dwamena 等^[34]利用 Phytozome 数据库中 2 个苹果 PSY 基因的模型在苹果基因组数据中识别到了 6 条可能存在的 PSY 基因序列, 其中有 2 条在苹果 EST 数据库

中不存在可用的转录本, 一条基因序列不存在完整的编码区, 因此只对 3 条基因序列进行了功能验证。结果发现, *MdPSY1/2* 转入 pACCRTE 大肠杆菌后, 能够催化菌株中的 GGPP 缩合成八氢番茄红素; 转入 pACCAR25ΔcrtB(ΔcrtB) 大肠杆菌后, 可以合成玉米黄质; 而 *MdPSY4* 转入这 2 个菌株后并没有产生与 *MdPSY1/2* 相同的结果, 说明 *MdPSY4* 没有催化合成八氢番茄红素和玉米黄质的功能。基因表达结果表明, 果皮中的相对表达量要高于果肉, *MdPSY1* 和 *MdPSY2* 有相同的表达趋势, 但后者的表达量更高, 说明 *MdPSY2* 可能首先响应这一类胡萝卜素合成步骤。将基因相对表达量与类胡萝卜素总量进行相关性分析发现, 两者之间并无显著相关, 这可能说明转录后的机制才是类胡萝卜素总量多少的关键, 这与 Zhou 等^[35]在拟南芥上的研究结果一致。

八氢番茄红素脱氢酶(Phytoene desaturase, PDS)是类胡萝卜素合成途径中的限速酶, 能够催化八氢番茄红素脱氢生成 β -胡萝卜素, 进而在其他酶的作用下合成番茄红素。由于 PDS 是使类胡萝卜素从无色到有色的关键基因, 因此该基因已成为首要研究目标。目前, 已经从拟南芥^[36]等植物中克隆得到 PDS 基因。张小军等^[17]以‘澳洲青苹’为试材克隆得到了 1 个 PDS 基因 *MdPDS*, 该基因在树皮、叶、花和果实中表达且在树皮中表达量最高, 在果实不同发育生长阶段表达量变化不大。

类胡萝卜素裂解双加氧酶(Carotenoid cleavage dioxygenases, CCD)能在特定的位点裂解氧化类胡萝卜素而形成多种辅基类胡萝卜素。拟南芥 *ccd1* 缺陷型突变体种子中类胡萝卜素的含量增加, 表明 CCD1 在类胡萝卜素催化裂解过程中起作用^[37]。目前, 已经从番茄^[38]等多种植物中克隆得到 CCD1 的同源基因。由淑贞^[39]从‘平邑甜茶’中克隆得到 1 个 CCD 基因 *MhCCD*, 该基因在休眠种子中表达量极低, 在层积露白的种子中表达量最高, 表明该基因参与了种子萌发的过程并起重要作用。为研究该基因与种子休眠的关系, 利用一氧化氮供体 SNP 对平邑甜茶的种子进行处理, 结果发现能够明显提高发芽率, 随着层积处理时间的不断延长, *MhCCD* 基因的表达量也逐步增加, 并在发芽的种子中达到最高, 表明 *MhCCD* 基因可能在平邑甜茶种子的萌发过程中起正调控作用。张玮

玮^[40]的研究表明, 过表达 *MhCCD* 基因会导致野生型拟南芥内源胡萝卜素总量下降, 突变体 *ccd1-1* 及转沉默载体的 CRI 转基因植株的内源胡萝卜素总量会明显上升, 说明该基因能够起到降解类胡萝卜素的作用。

9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED) 是控制类胡萝卜素向 ABA 转化的限速酶, 它催化紫黄质或新黄质裂解形成 ABA 前体 C15 黄氧素^[41]。目前, 已在番茄^[42]、草莓 (*Fragaria ananassa* Duch.)^[43] 等植物中克隆得到 NCED 基因。由淑贞^[39] 以‘平邑甜茶’为试材克隆得到 1 个 NCED 基因 *MhNCED*, 该基因在层积露白的种子中表达量极低, 在休眠的种子中大幅增加; 该基因主要定位于叶绿体和线粒体中, 功能叶片叶肉细胞中叶绿素含量比幼叶多, 说明功能叶片该基因的表达量高于幼叶, qPCR 实验结果也印证了这一点。在野生型拟南芥中过表达该基因, 可以发现种子内源 ABA 的含量高于野生型, 同时也推迟了种子萌发时间^[40]。

3.2 类胡萝卜素的代谢调控

虽然植物类胡萝卜素合成途径的研究已经开展较多, 但有关类胡萝卜素调控机制的研究仍需深入, 现今已经在多种模式植物中发现了不同种类的转录因子, 其中有部分可以调控类胡萝卜素的合成^[5]。

MADS-box 转录因子家族因可以特异识别 DNA 序列的高度保守结构域, 现已经在拟南芥^[44] 等多种植物中发现。研究发现, 该转录因子家族在植物生长发育过程中有着重要作用, 其不仅参与了植物的开花、胚珠发育, 同时也参与了果实成熟等重要过程^[45]。Ireland 等^[46] 的研究表明, 抑制苹果 *MdMADS8* 和 *MdMADS9* 的表达会大大减少果肉的发育。何晓文等^[47] 以‘红将军’为试材的研究发现, ζ -胡萝卜素脱氢酶基因 (*MdZDS*) 与 *MdMADS8* 的表达趋势类似, β -胡萝卜素羟化酶基因 (*MdCRH-β*) 与 *MdMADS9* 的表达趋势相似; 将 *MdMADS8* 转入到烟草中发现, *ZDS* 基因表达量升高, 说明 *MdMADS8* 会影响 *ZDS* 基因的表达, 而将 *MdMADS9* 转入到烟草中并未发现 *CRH-β* 基因表达量有明显变化, 但有关这 2 个基因在类胡萝卜素合成中的重要作用还需更加深入的研究。

AP2/ERF 转录因子家族最早在拟南芥中发现,

此家族成员众多, 参与了植物生长、花和果实的发育、抗逆等多种生物学过程^[48]。拟南芥的相关研究发现^[49], AP2 家族的成员 *AtRAP2.2* 可以特异结合到 *PSY/PDS* 基因的启动子上, 从而调控植物类胡萝卜素的合成。‘红将军’中 *MdPSY* 与 *MdAP2* 的表达趋势类似, 转入烟草发现, 转基因植株中 *PSY* 基因的表达量升高, 证明转录因子 *MdAP2* 确实可以调控类胡萝卜素的合成^[47]。

4 环境因子对苹果类胡萝卜素合成与代谢的调控

4.1 光对苹果类胡萝卜素合成的调控

光作为一个重要的环境影响因子参与了植物的整个生长发育过程, 通过调控光来改善果实品质已经是现在研究中的一大热点。目前, 已有大量研究表明光是调控植物类胡萝卜素积累的关键因素之一^[2]。套袋技术是目前生产高档苹果的重要措施之一, 目前已逐渐在生产中大量应用。为了研究“套袋-取袋”这一“遮光-见光”模式对苹果果实生长发育过程中果实品质的影响, 夏静等^[50] 以‘红富士’为试材进行了相关研究, 结果表明套用纸袋后, 果皮类胡萝卜素含量基本呈先下降后上升的趋势, 而对照品种果皮中的类胡萝卜素含量则缓慢下降, 但套袋处理的类胡萝卜素含量始终低于对照。取袋后果皮类胡萝卜素含量呈缓慢上升趋势, 而对照品种则呈缓慢下降趋势; 且随着时间推移套袋果与对照果差异逐渐变小。这一结果说明, 光在类胡萝卜素的合成中至关重要, 虽然套袋会减少类胡萝卜素的合成, 但取袋后类胡萝卜素仍能快速合成, 这既能保证果实表面光滑, 又不会过多减少类胡萝卜素的含量。研究表明, 随着海拔的升高, ‘金冠’果皮中的类胡萝卜素含量逐渐降低且处理间差异显著; 进一步的光质分析发现, 除红外线与类胡萝卜素呈显著正相关之外, 其余包括可见光、紫外线等都与类胡萝卜素含量呈极显著负相关^[51]。遗憾的是, 该研究只在生理层面测定了类胡萝卜素的含量, 并未过多的进行类胡萝卜素在光下合成机制的探讨。目前在模式植物中的研究发现, 光照主要是通过提高的启动子活性来调控类胡萝卜素的积累^[52]。

4.2 外源激素及根外施肥对类胡萝卜素合成的调控

为了改善果实品质, 除了补光、套袋等调控光

的方法之外，很多时候还会用到喷施外源激素的方法。许建锋等^[28]以‘新红星’和‘红富士’为试材，利用MeJA喷施树体，探索MeJA在实际生产中应用的可行性。结果发现，MeJA的浓度越高，类胡萝卜素含量增加越显著，在 2×10^{-3} mol/L的浓度下，‘新红星’和‘红富士’果实中的类胡萝卜素含量均显著高于对照。刘丽红^[53]以不同浓度的MeJA处理番茄果实发现，番茄果实番茄红素的积累与内源MeJA的水平呈正相关，说明喷施MeJA可以增加果实类胡萝卜素的积累。王震^[54]利用不同浓度多巴胺和褪黑素分别处理2年生富士苗，结果发现，以50 μmol/L多巴胺处理的叶片中类胡萝卜素含量最高且差异显著，随处理浓度的增高类胡萝卜素含量逐渐降低；以400 μmol/L褪黑素处理的叶片中类胡萝卜素含量最高且差异显著，其他浓度处理均与对照差异不显著。

在果树生长发育时期，适当的追肥也有利于果实的着色。为了探讨施肥对苹果着色的影响及适宜用量，姜学玲等^[55]以‘富士’苹果（砧木为八棱海棠）为试材展开了研究，结果表明，在最高钾肥用量（2000 g/株）处理下类胡萝卜素含量上升到最高点，而花青素含量降至最低，因此导致果皮发黄、着色较差。测定果实矿质元素含量发现，钾肥用量与果实K含量呈显著正相关，与果实Mg含量呈极显著负相关，高钾使果实中K积累过多，抑制了Mg的吸收，最终导致了果实着色差的现象。增施钙、镁肥可抑制钾的积累，促进镁的吸收。

4.3 不同砧木对类胡萝卜素合成的调控

宋伊真等^[56]将苹果品种‘嘎啦’、‘烟富3’、‘烟富6’嫁接到不同的无融合砧木及矮化中间砧上，以期探索不同砧穗组合对这3个品种果实β-胡萝卜素含量的影响。结果表明，部分矮化中间砧（Dwarfing stock）（‘M26’、‘Mark’、‘CG80’、‘B9’）可以明显提高这3种接穗果实β-胡萝卜素的含量。这一结果说明砧木对接穗的影响是多方面的，不仅影响果实的大小，还会影响果实的品质，如次生物质的含量，同时，也能够说明利用砧木改善苹果果实的内在品质是可行的。苹果砧木的种类和接穗品种多样，需要更多和更为详细的试验来揭示各种砧木以及砧穗组合对不同品种果实类胡萝卜素含量的影响。宋伊真等^[20]将‘嘎拉’和‘烟富6’

品种分别嫁接在不同砧木上，均以‘平邑甜茶’砧木为对照，研究发现，嫁接在不同砧木上的‘嘎啦’的类胡萝卜素含量在盛花期后的50~110 d时出现急剧下降的趋势，在成熟时又有所回升；‘烟富6’在盛花期50~110 d时的趋势与‘嘎啦’相同，但在成熟时，仅有部分品种的类胡萝卜素含量会上升。结果表明通过在生产实践中选育优良的砧木提高接穗品种果实内在品质是可行的，与之前的研究结果一致。但作者只针对生理方面做了一定的测定，有关苹果砧木和中间砧如何影响接穗品种果实的外观与内在品质的机理研究并未做深入的探讨。

5 展望

类胡萝卜素作为调控苹果果实色泽形成的一个重要因子，研究它的代谢及调控途径有利于为改良果实品质提供理论依据。虽然有关类胡萝卜素通路途径的研究日渐增多，但是目前仍有许多问题需要解决。苹果中有关类胡萝卜素的研究多停留于含量测定成分分析方面，有关机理的研究还有待深入，这也是未来研究的重点。

(1)类胡萝卜素代谢途径在植物体内是相对保守的，但不同物种或品种之间类胡萝卜素的种类与含量存在差异。Delgado-Pelayo等^[23]的测定结果表明，13个品种中含有的类胡萝卜素种类不相同且含量的差异也比较明显，这一结果刚好印证了植物类胡萝卜素代谢合成调控的复杂性。因此，在生理水平上结合分子生物学手段深入分析造成该差异现象出现的原因，将能够进一步明确苹果中类胡萝卜素代谢的具体机制。

(2)随着类胡萝卜素调控途径的基因不断从植物中分离出来，其调控的网络也逐渐被完善。目前，在模式植物上的研究表明^[46,47,49]，一些转录因子可以通过直接作用于类胡萝卜素合成关键酶基因，从而调控类胡萝卜素种类或者含量的改变，或者通过调控果实成熟，间接引起其种类或者含量的改变。因此，研究转录因子在调控类胡萝卜素的合成过程中的重要作用，分析这些转录因子通过什么方式进行调控或者具体调控哪种类胡萝卜素合成基因，进而通过转基因技术提高或降低转录因子的表达，为改变苹果果实表面色泽提供理论与技术支持。

(3) 环境因子对类胡萝卜素合成的调控作用是不可忽视的, 不同的光照^[50]、外源激素^[28,53,54]、嫁接砧木^[56]等处理对类胡萝卜素的合成存在着一定的影响。因此, 深入研究环境因子对类胡萝卜素合成影响的具体机制, 能够为实际生产中改良果实表面颜色提供一定的理论支持。

总之, 随着人们对于苹果类胡萝卜素代谢调控研究的深入, 利用转基因等技术改变苹果果实内类胡萝卜素含量将更具可能性^[57]。

参考文献:

- [1] 雷琴. 苹果成熟过程中品质变化特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
- [2] Cazzonelli CI, Pogson BJ. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(5): 266–274.
- [3] Tracewell CA, Vrettos JS, Bautista JA, Frank HA, Brudvig GW. Carotenoid photooxidation in photosystem II [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 385(1): 61–69.
- [4] 惠伯棣. 类胡萝卜素化学及生物化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [5] 高慧君, 明家琪, 张雅娟, 徐娟. 园艺植物中类胡萝卜素合成与调控的研究进展[J]. 园艺学报, 2015, 42(9): 1633–1648.
- [6] Gao HJ, Ming JQ, Zhang YJ, Xu J. Regulation of carotenoids biosynthesis in horticultural crops [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(9): 1633–1648.
- [7] Dall’Osto L, Cazzaniga S, North H, Marion-Polla, Bassi R. The *Arabidopsis aba4-1* mutant reveals a specific function for neoxanthin in protection against photo oxidative stress [J]. *Plant Cell*, 2007, 19(3): 1048–1064.
- [8] Polívka T, Frank HA. Molecular factors controlling photosynthetic light harvesting by carotenoids [J]. *Acc Chem Res*, 2010, 43(8): 1125–1134.
- [9] Franco AC, Matsubara S, Orthen B. Photoinhibition carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees [J]. *Tree Physiol*, 2007, 27(5): 717–725.
- [10] Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer PB, Puech-Pagès V, Dun EA, et al. Strigolactone inhibition of shoot branching [J]. *Nature*, 2008, 455(7210): 189–194.
- [11] 朱运钦, 乔改梅, 王志强. 植物类胡萝卜素代谢调控的研究进展 [J]. 分子植物育种, 2016, 14(2): 471–474.
- [12] Zhu YQ, Qiao GM, Wang ZQ. Research advances on metabolism regulation of plant carotenoids [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(2): 471–474.
- [13] Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health [J]. *Pharmacol Res*, 2007, 55(3): 207–216.
- [14] 霍培, 季静, 王罡, 关春峰. 植物类胡萝卜素生物合成及功能 [J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(11): 107–113.
- [15] Huo P, Ji J, Wang G, Guan CF. Biosynthesis and function of carotenoid in plant [J]. *China Biotechnology*, 2011, 31(11): 107–113.
- [16] Lancaster JE, Grant JE, Lister CE, Taylor MC. Skin color in apples-influence of copigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes [J]. *J Am Soc Hortic Sci*, 1994, 119(1): 63–69.
- [17] 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.
- [18] Saure MC. External control of anthocyanin formation in apple [J]. *Sci Hortic*, 1990, 42(3): 181–218.
- [19] 赵文恩, 韩雅珊, 张劲强, 乔宪生, 俞宏. 高效液相色谱法测定苹果果皮的类胡萝卜素 [J]. 果树学报, 2001, 18(2): 95–97.
- [20] Zhao WE, Han YS, Zhang JQ, Qiao XS, Yu H. The determination of carotenoids in apple peel by HPLC [J]. *Journal of Fruit Science*, 2001, 18(2): 95–97.
- [21] 张小军. ‘澳洲青苹’苹果套袋处理后果实着色相关基因的克隆及表达分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [22] 宋成秀, 张修德, 宋成香, 宗泽冉, 张利义, 等. 苹果果实发育期果皮色泽与色素变化及其相关性分析 [J]. 中国南方果树, 2016, 45(4): 106–110.
- [23] 宋伊真, 张玉刚, 祝军, 戴洪义. ‘鲁加’系列苹果果实发育期酚类和果皮色素含量变化研究 [J]. 北方园艺, 2014(24): 28–30.
- [24] Song YZ, Zhang YG, Zhu J, Dai HY. Study on changes of phenols and pericarp pigment content during growth period of ‘Lujia’ apple series [J]. *Northern Horticulture*, 2014(24): 28–30.
- [25] 宋伊真, 王芝云, 沙广利, 张玉刚, 祝军, 戴洪义. 不同砧穗组合的苹果果实总酚、类黄酮和果皮色素含量变化的研究 [J]. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2014, 31(3): 172–176.
- [26] Song YZ, Wang ZY, Sha GL, Zhang YG, Zhu J, Dai HY. Research on the dynamic changes of total phenols, flavonoids and pericarp pigment content in apples derived from different stock-scion combinations during growth and development period [J]. *Journal of Qingdao Agricultural University: Natural Science Edition*, 2014, 31(3): 172–176.
- [27] 闫忠业, 伊凯, 李作轩, 刘志, 王冬梅等. 苹果果皮色素类物质含量变化及其相互关系的研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(6): 821–825.
- [28] Yan ZY, Yi K, Li ZX, Liu Z, Wang DM, et al. Changes and relationships of apple pigment content in pericarp [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2006, 37(6): 821–825.
- [29] 潘增光, 王国宾, 李奎明, 束怀瑞. 新红星苹果果实着色期

- 几种色素含量变化及其相关性[J]. 植物生理学报, 1996, 32(5): 347-349.
- Pan ZG, Wang GB, Li KM, Shu HR. Changes of some pigment contents and their correlation during skin coloring stage in 'Starkrimson' apple[J]. *Plant Physiology Communications*, 1996, 32(5): 347-349.
- [23] Delgado-Pelayo R, Gallardo-Guerrero L, Hornero-Méndez D. Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of commercial apple fruit varieties[J]. *Food Res Int*, 2014, 65: 272-281.
- [24] Ampomah-Dwamena C, Dejnoprat S, Lewis D, Sutherland P, Volz RK, Allan AC. Metabolic and gene expression analysis of apple (*Malus × domestica*) carotenogenesis[J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(12): 4497-4511.
- [25] 袁启凤, 卢星渝, 仲伟敏, 宋莎, 马玉华. 黔中地区不同品种苹果果皮色素类物质的含量变化[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(8): 205-208.
- Yuan QF, Lu XY, Zhong WM, Song S, Ma YH. Changes of pigments contents pericarp of different apple varieties in central Guizhou[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2015, 43(8): 205-208.
- [26] 谢兵, 周杰, 朱树华. 新疆红肉苹果发育期间花青素代谢的研究[J]. 山东农业科学, 2015, 47(8): 25-29.
- Xie B, Zhou J, Zhu SH. Study on anthocyanin metabolism in Xinjiang red-flesh apple during fruit development [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2015, 47(8): 25-29.
- [27] 李季芳. '红富士'苹果采后贮藏过程中色度及其色素成分变化的相关研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- [28] 许建锋, 张玉星, 张江红, 石海燕, 张殿生. 莱茉酸甲酯对苹果果实着色的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(10): 271-274.
- Xu JF, Zhang YX, Zhang JH, Shi HY, Zhang DS. Effect of methyl jasmonate on coloring of apple[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(10): 271-274.
- [29] Schrader LE, Kahn CB, Felicetti DA, Sun J, Xu J, Zhang J. Effects of high temperature and high solar irradiance on sunburn, quality, and skin pigments of apple fruit[J]. *Acta Horticulturae*, 2011, 903(1): 1025-1040.
- [30] Burkhardt PK, Beyer P, Wünn J, Klöti A, Armstrong GA, et al. Transgenic rice (*Oryza sativa*) endosperm expressing daffodil (*Narcissus pseudonarcissus*) phytoene synthase accumulates phytoene, a key intermediate of provitamin A biosynthesis[J]. *Plant J*, 1997, 11(5): 1071-1078.
- [31] Rordiguez-Villalon A, Gas E, Rodriguez-Concepcion M. Phytoene synthase activity controls the biosynthesis of carotenoids and the supply of their metabolic precursors in dark-grown *Arabidopsis* seedlings[J]. *Plant J*, 2009, 60(3): 424-435.
- [32] Fraser PD, Kiano JW, Truesdale MR, Schuch W, Bramley PM. Phytoene synthase-2 enzyme activity in tomato does not contribute to carotenoid synthesis in ripening fruit[J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 40(4): 687-698.
- [33] Busch M, Seuter A, Hain R. Functional analysis of the early steps of carotenoid biosynthesis in tobacco[J]. *Plant Physiol*, 2002, 128(2): 439-453.
- [34] Ampomah-Dwamena C, Driedonks N, Lewis D, Shumskaya M, Chen X, et al. The phytoene synthase gene family of apple (*Malus × domestica*) and its role in controlling fruit carotenoid content[J]. *BMC Plant Biol*, 2015, 15(1): 1-14.
- [35] Zhou X, Welsch R, Yang Y, Álvarez D, Riediger M, et al. *Arabidopsis* OR proteins are the major posttranscriptional regulators of phytoene synthase in controlling carotenoid biosynthesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(11): 3558-3563.
- [36] Scolnik PA, Bartley GE. Phytoene desaturase from *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 1993, 103(4): 1475.
- [37] Auldrige M, Block A, Vogel J, Dabney C, Mtlia I, et al. Characterization of three members of the *Arabidopsis* carotenoid cleavage dioxygenase family demonstrates the divergent roles of this multifunctional enzyme family [J]. *Plant J*, 2006, 45(6): 982-993.
- [38] Simkin AJ, Schwartz SH, Auldrige M, Taylor MG, Klee HJ. The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone and geranylacetone[J]. *Plant J*, 2004, 40(6): 882-892.
- [39] 由淑贞. 平邑甜茶 *MhNCED* 和 *MhCCD* 基因分离及功能初步鉴定[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
- [40] 张玮玮. 平邑甜茶类胡萝卜素裂解关键酶基因的功能鉴定[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [41] Nambara E, Marion-Poll A. Abscisic acid biosynthesis and catabolism[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2005, 56(1): 165-185.
- [42] Burbidge A, Grieve TM, Jackson A, Thompson A, McCarthy DR, Taylor IB. Characterization of the ABA-deficient tomato mutant *notabilis* and its relationship with maize *Vp14*[J]. *Plant J*, 1999, 17(4): 427-431.
- [43] 朱海生, 李永平, 花秀凤, 温庆放. 草莓 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶基因 *FaNCED* 的克隆及表达分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(1): 40-48.
- Zhu HS, Li YP, Hua XF, Wen QF. Cloning and expression analysis of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene *FaNCED* in strawberry [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39(1): 40-48.
- [44] Jack T, Brockman LL, Meyerowitz EM. The homeotic gene *APETALA3* of *Arabidopsis thaliana* encodes a MADS box and is expressed in petals and stamens[J]. *Cell*, 1992, 68(4): 683-697.

- [45] Busi MV, Bustamante C, D'angelo C, Hidalgo-Cuevas M, Boggio SB, et al. MADS-box genes expressed during tomato seed and fruit development [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, 52(4): 801–815.
- [46] Ireland HS, Yao JL, Tomes S, Sutherland PW, Nieuwenhuizen N, et al. Apple *SEPALLATA1/2-like* genes control fruit flesh development and ripening [J]. *Plant J*, 2013, 73(6): 1044–1056.
- [47] 何晓文, 原永兵. *MdAP2*、*MdMADS8* 和 *MdMADS9* 在苹果类胡萝卜素代谢中的作用 [J]. 园艺学报, 2014, 41(S): 2582.
- [48] 张计育, 王庆菊, 郭忠仁. 植物 AP2/ERF 类转录因子研究进展 [J]. 遗传, 2012, 34(7): 835–847.
Zhang JY, Wang QJ, Guo ZR. Progresses on plant AP2/ERF transcription factors [J]. *Hereditas*, 2012, 34(7): 835–847.
- [49] Welsch R, Maass D, Voegel T, Dellapenna D, Beyer P. Transcription factor RAP2. 2 and its interacting partner Si-NAT2: stable elements in the carotenogenesis of *Arabidopsis* leaves [J]. *Plant Physiol*, 2007, 145(3): 1073–1085.
- [50] 夏静, 章镇, 吕东, 渠慎春. 套袋对苹果发育过程中果皮色素及果肉糖含量的影响 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(8): 1675–1680.
Xia J, Zhang Z, Lü D, Qu SC. Changes of peel pigments and flesh sugar contents in bagging *Malus pumila* during development stage [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica*, 2010, 30(8): 1675–1680.
- [51] 刘志容, 张光伦, 冯绍玉, 刘伟, 冯绍惠, 叶伟平. 不同海拔高度光质分布与金冠苹果果实品质的相关性研究 [J]. 北方园艺, 2009(7): 25–28.
Liu ZR, Zhang GL, Feng SY, Liu W, Feng SH, Ye WP.
- Orthogonal screening of new seed coating formula [J]. *Northern Horticulture*, 2009(7): 25–28.
- [52] Welsch R, Medina J, Giuliano G, Beyer P, Von LJ. Structural and functional characterization of the phytoene synthase promoter from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Planta*, 2003, 216(3): 523–534.
- [53] 刘丽红. 茉莉酸和油菜素甾醇调控番茄果实类胡萝卜素积累的机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [54] 王震. 多巴胺和褪黑素对苹果幼树生长的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- [55] 姜学玲, 徐维华, 李延菊, 张振英, 唐美玲, 刘美英. 钾肥对富士苹果着色的影响及机理 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(5): 946–954.
Jiang XL, Xu WH, Li YJ, Zhang ZY, Tang ML, Liu MY. Influence and mechanism of potassium fertilizer on the coloration of 'Fuji' apple [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(5): 946–954.
- [56] 宋伊真, 王芝云, 沙广利, 张玉刚, 祝军, 戴洪义. 不同砧穗组合对苹果花青苷和 β -胡萝卜素含量的影响 [J]. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2013, 30(4): 258–261.
Song YZ, Wang ZY, Sha GL, Zhang YG, Zhu J, Dai HY. The effects of different stock-scion combinations on the contents of anthocyanin and beta-carotene in apple [J]. *Journal of Qingdao Agricultural University: Natural Science Edition*, 2013, 30(4): 258–261.
- [57] 苏杰, 郭荣起, 李国婧, 王瑞刚. 过表达 *VHA-c4* 和 *VHA-c5* 基因对拟南芥根长的影响 [J]. 植物科学学报, 2016, 34(5): 765–774.
Su J, Guo RQ, Li GJ, Wang RG. Effect on root length of the overexpression of *Arabidopsis VHA-c4* and *VHA-c5* genes [J]. *Plant Science Journal*, 2016, 34(5): 765–774.

(责任编辑: 周媛)