

## 河北省苹果地方品种果实多酚组分和含量特性及遗传背景分析

王大江<sup>1,2</sup>, 王昆<sup>1,2,\*</sup>, 高源<sup>1,2</sup>, 赵继荣<sup>1,2</sup>, 刘立军<sup>1,2</sup>, 李连文<sup>1,2</sup>, 李静<sup>1</sup>

<sup>1</sup>中国农业科学院果树研究所, 辽宁兴城125100; <sup>2</sup>农业部园艺作物种质资源利用重点实验室, 辽宁兴城125100

**摘要:** 利用超高效液相色谱(UPLC)及液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)研究12个河北省苹果地方品种果实多酚组分及含量特性, 并分析其遗传背景。结果表明: 河北省苹果地方品种中共检测到5类22种多酚组分, 原花青素为主要酚类物质, 不同品种间多酚组成和含量存在显著差异, 变异系数为40.48%~151.68%。‘红海棠’中原花青素和二氢查耳酮的含量较高, ‘沙果’中羧基肉桂酸和黄酮醇含量较高, ‘热碾子’有较高的花青苷含量。聚类分析结果表明, 同类或遗传背景相似的品种聚为一类, 推测‘晚白海棠’携带‘沙果’、‘中国彩苹’或‘香果’的基因, 或者同时携带以上二者或三者的基因, ‘红海棠’携带‘沙果’的基因。从多酚组分间的相关性分析可以看出, 同类物质或者具有相同代谢途径的多酚物质相关性较强, 基本聚为一类。本文研究结果为河北省苹果地方品种的开发应用和遗传背景研究提供了依据。

**关键词:** 苹果; 地方品种; 多酚; 遗传背景

地方品种亦称农家品种, 是农民经过长期驯化世代相传的具有明显不同特点的作物, 地方品种具有适应性强和类型多等特点, 其遗传组成具有较高的杂合性(刘旭等2008)。我国为苹果属植物的起源演化中心之一, 在长期的演变进化中产生了类型多样的地方品种, 不同环境条件形成了许多含有特殊功能性成分的特异资源, 经过长期的自然演化和人工选择, 这些品种形成了较为复杂的遗传背景(王大江等2016), 甚至某些品种的遗传背景尚未明确。据报道, 苹果多酚对超氧阴离子的清除能力是维生素C和维生素E的10~30倍, 具有较强的还原能力和抗脂质过氧化功能, 是一种具有天然抗氧化和自由基清除能力的功能性成分(刘杰超等2005), 其含量和组分亦可作为苹果属植物分类的依据(Williams 1982)。研究我国苹果地方品种的多酚含量特性, 对我国苹果地方品种功能性果实的开发利用及其遗传背景研究具有重要意义。

前人针对苹果野生资源、栽培品种的多酚组成、含量及其差异进行了研究和分析(宋焯等2007; 张小燕等2008; 聂继云等2010a), 但对我国原产地方品种的多酚含量研究较少, 由于地方品种遗传背景复杂, 前人多根据其表现性状进行推测。为此, 本文针对我国原产河北省的12个主要苹果地方品种果实多酚含量进行检测和分析, 旨在明确我国河北省苹果地方品种的多酚含量特性, 探讨其遗传背景, 为其加工应用及高多酚类物质的亲本选育提供科学依据和参考。

## 材料与方法

### 1 试验时间和地点

试验材料于2014年9月下旬从河北省张家口市怀来县和涿鹿县采集。试验材料的处理和多酚含量检测在中国农业科学院果树研究所农业部园艺作物种质资源利用重点实验室(辽宁省兴城市)进行。

### 2 植物材料

12个河北省苹果地方品种(表1)采用随机取样, 每个品种随机选取3株树, 从树冠中部外围采

表1 12个参试的河北省苹果地方品种

Table 1 The 12 tested apple landraces grown in Hebei Province

品种	学名
‘八棱海棠’	<i>Malus robusta</i> (Carr.) Rehd.
‘槟子’	<i>Malus domestica</i> subsp. <i>chinensis</i> var. <i>binzi</i> Li Y. N.
‘红海棠’	不详
‘红楸果’	不详
‘黄楸果’	不详
‘冷碾子’	<i>Malus robusta</i> (Carr.) Rehd.
‘平顶海棠’	<i>Malus robusta</i> (Carr.) Rehd.
‘热碾子’	<i>Malus robusta</i> (Carr.) Rehd.
‘沙果’	<i>Malus domestica</i> subsp. <i>chinensis</i> Li Y. N.
‘晚白海棠’	不详
‘香果’	<i>Malus domestica</i> subsp. <i>chinensis</i> var. <i>xianggoe</i> Li Y. N.
‘中国彩苹’	<i>Malus domestica</i> subsp. <i>chinensis</i> Li Y. N.

收稿 2017-02-22 修定 2017-07-21

资助 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610182016014)和中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP)。

\* 通讯作者(E-mail: wangkun5488@163.com)。

集10个成熟果实,及时常温运输到中国农业科学院果树研究所,用液氮冷冻研磨,存放于 $-80^{\circ}\text{C}$ 待测。

### 3 方法

#### 3.1 标准样品

18种标准品纯度均不低于98%,儿茶素(catechin)、绿原酸(chlorogenic acid, CHLAC)、表儿茶素(epicatechin, EPI)、芦丁(rutin, QUERU)、槲皮素3-木糖苷(querctin 3-xyloside, QUEXY)、矢车菊素3-半乳糖苷(cyanidin 3-galactoside, CYAGA)、矢车菊素3-阿拉伯糖苷(cyanidin 3-arabinoside, CYAAR)、矢车菊素3-木糖苷(cyanidin 3-xyloside, CYAXY)、芍药色素3-半乳糖苷(peonidin 3-galactoside, PEOGA)和根皮苷(phloridzin, PHL)购于Sigma-Aldrich公司,原花青素 $B_1$  (procyanidin  $B_1$ , PROB1)、原花青素 $B_2$  (procyanidin  $B_2$ , PROB2)、原花青素 $C_1$  (procyanidin  $C_1$ , PROC1)、槲皮素3-半乳糖苷(querctin 3-galactoside, QUEAL)、槲皮素3-葡萄糖苷(querctin 3-glucoside, QUEGL)、槲皮素3-阿拉伯糖苷(querctin 3-arabinopyranoside, QUEAR)和槲皮素3-鼠李糖苷(querctin 3-rhamnoside, QUERH)购于ChromaDex公司。无标样的多酚类组分以液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)定性、超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)定量,其中,3,4-二咖啡酰奎宁酸(4-dicaffeoylquinic acid, DICAC)、肉桂酸(cinnamic acid, CINAC)、4-*O-p*-香豆酰奎宁酸(4-*O-p*-coumaroyl quinic acid, COU4AC)和5-*O-p*-香豆酰奎宁酸(5-*O-p*-coumaroyl quinic acid, COU5AC)以绿原酸定量,3-羟根皮素2'-木糖葡萄糖苷(3-hydroxyphloretin 2'-xylosylglucoside, HYDXY)、根皮素2'-木糖苷(phloretin 2'-xyloglucoside, PHLXY)和3-羟根皮素2'-葡萄糖苷(3-hydroxyphloretin 2'-glucoside, HYDGL)以根皮苷定量。

#### 3.2 UPLC和LC-MS条件

采用美国Waters公司的UPLC-XeVo/TQ型超高效液相色谱仪,配有PDA e1检测器。色谱柱为美国Waters公司的Atlantis<sup>®</sup> T3和月旭材料科技(上海)有限公司的Ultimate<sup>®</sup> LP-C18,规格均为250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ;固相萃取小柱为美国Waters公司的Oasis<sup>®</sup> HLB, 6cc, 200 mg。UPLC条件为:流速

0.3 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>;进样量2.0  $\mu\text{L}$ ;柱温40 $^{\circ}\text{C}$ ;波长扫描范围200~600 nm;定量检测波长280、320、360和520 nm;流动相A为乙腈,流动相B为0.5%的甲酸溶液,梯度洗脱,A液,0% (0 min) $\rightarrow$ 10% (1 min) $\rightarrow$ 20% (10 min) $\rightarrow$ 25% (16 min) $\rightarrow$ 40% (18 min) $\rightarrow$ 100% (19 min),20 min回到初始状态,平衡5 min。

LC-MS条件为:电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI),多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式,离子源温度150 $^{\circ}\text{C}$ ,脱溶剂气温度400 $^{\circ}\text{C}$ ,脱溶剂气流量800 L $\cdot$ h<sup>-1</sup>,锥孔气流速50 L $\cdot$ h<sup>-1</sup>,碰撞气(高纯氩气)流速0.14 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>。

#### 3.3 多酚提取及检测

样品处理及多酚类物质含量测定参考Tsao等(2003)和聂继云等(2010b),略有改动。称取冷冻研磨后的苹果样品10.0 g,加入80%乙醇25 mL,摇匀后放置在超声波中超声20 min,11 500 $\times$ g离心5 min,上清液倒入50.0 mL棕色容量瓶中,用20 mL 80%乙醇重复提取1次,合并2次提取的上清液,用80%乙醇定容至50.0 mL。吸取10 mL提取液在40 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发仪上蒸发除去乙醇,剩余2~3 mL水相过Oasis<sup>®</sup> HLB固相萃取小柱。首先用10 mL甲醇和10 mL纯净水活化固相萃取小柱,然后倒入样品提取液,用10 mL水分2次淋洗固相萃取小柱,弃去水相,10 mL甲醇分2次淋洗固相萃取小柱,收集滤液,40 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发仪上蒸发至近干,甲醇定容至5 mL,过0.22  $\mu\text{m}$ 有机相滤膜,待测。均设3个重复。

#### 4 数据统计分析

采用Microsoft Office Excel 2010、SPSS 19.0 (SPSS Inc., USA)软件对数据进行方差分析和相关性分析,用DPS v16.05进行聚类分析,将相关性分析结果采用MultiExperiment Viewer version 4.9.0对多酚组分构建热图。

## 实验结果

### 1 河北省苹果地方品种多酚组分与含量

从12个河北省苹果地方品种中检测出5类22种多酚类物质,其中包括6种黄酮醇(flavonol)、5种羟基肉桂酸(hydroxycinnamic acid)、4种花青苷(anthocyanin)、3种原花青素(procyanidin)和4种二氢查耳酮(dihydrochalcone)。不同品种的多酚组成不同,含量存在显著差异,变异系数40.48%~151.68%,

变异系数最小的为绿原酸, 变异系数最大的为芍药色素3-半乳糖苷。‘晚白海棠’中未检测出芦丁, ‘红楸果’中未检测到4-*O-p*-香豆酰奎宁酸, 矢车菊素3-阿拉伯糖苷未在‘黄楸果’、‘红海棠’、‘晚白海棠’和‘沙果’中检测到, 矢车菊素3-木糖苷仅在‘热碓子’中检测到, 芍药色素3-半乳糖苷未在‘槟子’、‘平顶海棠’、‘中国彩苹’、‘热碓子’和‘晚白海棠’中检测到(表2)。

在12个河北省苹果地方品种中检测到的5类酚类物质均以原花青素的含量最高, 但同一类多酚在不同品种的含量存在明显差异。黄酮醇含量最高的为‘沙果’ [196.46 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)], 最低的为‘晚白海棠’ [20.50 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)]; 羟基肉桂酸含量最高的为‘沙果’ [482.46 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)], 最低的为‘槟子’ [127.43 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)]; 花青苷含量最高的为‘热碓子’ [272.58 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)], 最低的为‘黄楸果’

表2 12个河北省苹果地方品种多酚组分及含量

Table 2 Composition and content of polyphenols in 12 apple landraces grown in Hebei Province

品种	mg·kg <sup>-1</sup> (FW)										
	黄酮醇						羟基肉桂酸				
	QUERU	QUEAL	QUEGL	QUEXY	QUEAR	QUERH	CHLAC	DICAC	COU4AC	COU5AC	CINAC
‘八棱海棠’	2.03 <sup>e</sup>	35.30 <sup>f</sup>	13.63 <sup>e</sup>	10.94 <sup>d</sup>	29.08 <sup>d</sup>	18.62 <sup>g</sup>	172.16 <sup>cd</sup>	33.90 <sup>c</sup>	5.52 <sup>d</sup>	0.41 <sup>fg</sup>	1.65 <sup>d</sup>
‘槟子’	6.24 <sup>a</sup>	55.09 <sup>b</sup>	53.75 <sup>a</sup>	10.66 <sup>d</sup>	30.59 <sup>e</sup>	27.69 <sup>e</sup>	113.21 <sup>g</sup>	9.16 <sup>i</sup>	2.07 <sup>g</sup>	0.59 <sup>f</sup>	2.40 <sup>b</sup>
‘红海棠’	1.42 <sup>f</sup>	15.70 <sup>i</sup>	6.25 <sup>g</sup>	4.79 <sup>g</sup>	13.79 <sup>i</sup>	6.95 <sup>j</sup>	116.20 <sup>g</sup>	38.47 <sup>b</sup>	2.17 <sup>g</sup>	3.51 <sup>c</sup>	1.88 <sup>c</sup>
‘红楸果’	3.74 <sup>c</sup>	45.36 <sup>d</sup>	40.84 <sup>b</sup>	12.50 <sup>c</sup>	30.73 <sup>c</sup>	37.34 <sup>a</sup>	130.53 <sup>fg</sup>	9.56 <sup>i</sup>	—	6.64 <sup>b</sup>	1.69 <sup>d</sup>
‘黄楸果’	4.62 <sup>b</sup>	32.30 <sup>g</sup>	34.03 <sup>c</sup>	8.34 <sup>e</sup>	17.71 <sup>g</sup>	29.45 <sup>d</sup>	191.17 <sup>c</sup>	16.13 <sup>f</sup>	1.19 <sup>h</sup>	0.40 <sup>fg</sup>	2.70 <sup>a</sup>
‘冷碓子’	0.59 <sup>h</sup>	28.68 <sup>h</sup>	8.34 <sup>f</sup>	10.23 <sup>d</sup>	23.58 <sup>e</sup>	35.67 <sup>b</sup>	164.15 <sup>de</sup>	16.01 <sup>f</sup>	4.70 <sup>e</sup>	0.12 <sup>gh</sup>	1.50 <sup>d</sup>
‘平顶海棠’	0.28 <sup>i</sup>	31.76 <sup>g</sup>	6.35 <sup>g</sup>	7.12 <sup>f</sup>	16.18 <sup>h</sup>	15.15 <sup>h</sup>	157.07 <sup>de</sup>	33.51 <sup>c</sup>	1.53 <sup>gh</sup>	0.55 <sup>f</sup>	1.22 <sup>e</sup>
‘热碓子’	0.33 <sup>i</sup>	54.24 <sup>b</sup>	7.57 <sup>f</sup>	15.15 <sup>b</sup>	37.95 <sup>b</sup>	31.07 <sup>c</sup>	264.07 <sup>b</sup>	13.15 <sup>g</sup>	3.33 <sup>f</sup>	1.19 <sup>e</sup>	0.94 <sup>fg</sup>
‘沙果’	1.24 <sup>g</sup>	74.72 <sup>a</sup>	20.88 <sup>d</sup>	20.85 <sup>a</sup>	49.54 <sup>a</sup>	29.23 <sup>d</sup>	390.60 <sup>a</sup>	66.74 <sup>a</sup>	13.07 <sup>b</sup>	9.37 <sup>a</sup>	2.68 <sup>a</sup>
‘晚白海棠’	—	2.36 <sup>j</sup>	1.61 <sup>h</sup>	2.43 <sup>h</sup>	5.24 <sup>i</sup>	8.86 <sup>j</sup>	186.78 <sup>c</sup>	11.27 <sup>h</sup>	4.69 <sup>e</sup>	2.58 <sup>d</sup>	0.69 <sup>h</sup>
‘香果’	3.31 <sup>d</sup>	38.19 <sup>e</sup>	20.31 <sup>d</sup>	8.97 <sup>e</sup>	22.74 <sup>f</sup>	24.55 <sup>f</sup>	252.82 <sup>b</sup>	18.52 <sup>e</sup>	8.29 <sup>e</sup>	0.65 <sup>f</sup>	1.08 <sup>ef</sup>
‘中国彩苹’	0.75 <sup>h</sup>	51.33 <sup>c</sup>	5.74 <sup>g</sup>	5.53 <sup>g</sup>	17.68 <sup>g</sup>	15.02 <sup>h</sup>	146.73 <sup>ef</sup>	20.66 <sup>d</sup>	21.15 <sup>a</sup>	0.55 <sup>f</sup>	0.82 <sup>gh</sup>
平均	2.05	38.75	18.28	9.79	24.57	23.30	190.46	23.92	5.64	2.21	1.60
变异系数/%	94.63	48.18	87.53	49.13	47.05	42.40	40.48	68.14	104.43	129.41	42.88

品种	花青苷				原花青素			二氢查耳酮			
	CYAGA	CYAAR	CYAXY	PEOGA	PROB2	EPI	PROC1	HYDXY	PHLXY	HYDGL	PHLXY
‘八棱海棠’	32.62 <sup>f</sup>	0.44 <sup>f</sup>	—	12.84 <sup>d</sup>	718.34 <sup>e</sup>	264.45 <sup>d</sup>	467.87 <sup>c</sup>	18.65 <sup>c</sup>	8.09 <sup>c</sup>	91.46 <sup>b</sup>	53.04 <sup>b</sup>
‘槟子’	50.97 <sup>d</sup>	1.57 <sup>d</sup>	—	—	304.53 <sup>i</sup>	79.47 <sup>k</sup>	124.41 <sup>h</sup>	7.71 <sup>g</sup>	3.39 <sup>j</sup>	35.13 <sup>h</sup>	37.30 <sup>e</sup>
‘红海棠’	6.69 <sup>g</sup>	—	—	0.54 <sup>f</sup>	1221.34 <sup>b</sup>	501.54 <sup>a</sup>	548.76 <sup>a</sup>	58.77 <sup>a</sup>	17.39 <sup>a</sup>	260.22 <sup>a</sup>	62.03 <sup>a</sup>
‘红楸果’	147.18 <sup>c</sup>	3.53 <sup>b</sup>	—	18.15 <sup>c</sup>	685.63 <sup>e</sup>	173.02 <sup>g</sup>	175.21 <sup>g</sup>	11.61 <sup>f</sup>	7.07 <sup>d</sup>	55.12 <sup>g</sup>	47.60 <sup>e</sup>
‘黄楸果’	2.14 <sup>h</sup>	—	—	—	509.00 <sup>g</sup>	120.31 <sup>i</sup>	221.48 <sup>f</sup>	6.20 <sup>h</sup>	0.72 <sup>i</sup>	11.98 <sup>j</sup>	11.35 <sup>j</sup>
‘冷碓子’	33.42 <sup>f</sup>	1.17 <sup>e</sup>	—	21.40 <sup>b</sup>	604.12 <sup>f</sup>	145.03 <sup>h</sup>	254.40 <sup>e</sup>	15.60 <sup>e</sup>	6.31 <sup>f</sup>	61.54 <sup>f</sup>	41.38 <sup>d</sup>
‘平顶海棠’	195.05 <sup>b</sup>	2.63 <sup>c</sup>	—	34.42 <sup>a</sup>	1257.40 <sup>a</sup>	278.17 <sup>c</sup>	488.67 <sup>b</sup>	17.29 <sup>d</sup>	6.69 <sup>e</sup>	71.31 <sup>d</sup>	22.27 <sup>i</sup>
‘热碓子’	262.55 <sup>a</sup>	6.61 <sup>a</sup>	3.42	—	816.00 <sup>d</sup>	221.05 <sup>f</sup>	336.40 <sup>d</sup>	17.01 <sup>d</sup>	5.85 <sup>g</sup>	58.42 <sup>fg</sup>	25.28 <sup>h</sup>
‘沙果’	3.22 <sup>h</sup>	—	—	1.82 <sup>e</sup>	988.73 <sup>c</sup>	340.39 <sup>b</sup>	45.44 <sup>j</sup>	18.15 <sup>c</sup>	2.87 <sup>k</sup>	23.97 <sup>i</sup>	11.17 <sup>j</sup>
‘晚白海棠’	0.26 <sup>h</sup>	—	—	—	317.35 <sup>i</sup>	139.08 <sup>h</sup>	132.03 <sup>h</sup>	7.23 <sup>g</sup>	3.61 <sup>i</sup>	70.57 <sup>d</sup>	34.54 <sup>g</sup>
‘香果’	42.24 <sup>e</sup>	1.71 <sup>d</sup>	—	—	265.65 <sup>j</sup>	97.95 <sup>j</sup>	68.79 <sup>i</sup>	28.53 <sup>b</sup>	10.75 <sup>b</sup>	66.05 <sup>e</sup>	22.36 <sup>i</sup>
‘中国彩苹’	8.58 <sup>g</sup>	6.64 <sup>a</sup>	—	—	380.34 <sup>h</sup>	228.59 <sup>e</sup>	132.44 <sup>h</sup>	10.99 <sup>f</sup>	4.27 <sup>h</sup>	85.03 <sup>c</sup>	31.16 <sup>g</sup>
平均	65.41	2.02	—	7.43	672.38	215.75	249.66	18.15	6.42	74.23	33.29
变异系数/%	129.74	116.83	—	151.68	49.90	53.93	66.95	76.25	66.04	82.98	46.44

同列不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ); —: 未检出。QUERU: 芦丁; QUEAL: 槲皮素3-半乳糖苷; QUEGL: 槲皮素3-葡萄糖苷; QUEXY: 槲皮素3-木糖苷; QUEAR: 槲皮素3-阿拉伯糖苷; QUERH: 槲皮素3-鼠李糖苷; CHLAC: 绿原酸; DICAC: 4-咖啡酰奎宁酸; COU4AC: 4-*O-p*-香豆酰奎宁酸; COU5AC: 5-*O-p*-香豆酰奎宁酸; CINAC: 肉桂酸; CYAGA: 矢车菊素3-半乳糖苷; CYAAR: 矢车菊素3-阿拉伯糖苷; CYAXY: 矢车菊素3-木糖苷; PEOGA: 芍药色素3-半乳糖苷; PROB2: 原花青素B<sub>2</sub>; EPI: 表儿茶素; PROC1: 原花青素C<sub>1</sub>; HYDXY: 3-羟根皮素2'-木糖苷; PHLXY: 根皮素2'-木糖苷; HYDGL: 3-羟根皮素2'-葡萄糖苷; PHL: 根皮苷。图3同。



[2.14 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)]; 原花青素含量最高的为‘红海棠’ [2271.64 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)], 最低的为‘香果’ [432.39 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)]; 二氢查耳酮含量最高的为‘红海棠’ [398.41 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)], 最低的为‘沙果’ [56.16 mg·kg<sup>-1</sup> (FW)](图1)。

## 2 河北省苹果地方品种的聚类分析

以不同地方品种的多酚含量为依据, 进行系统聚类分析, 探讨河北省苹果地方品种的遗传背景, 遗传距离近、聚为一类的说明亲缘关系较近或者具有相似的遗传背景。由图2可以看出, ‘八棱

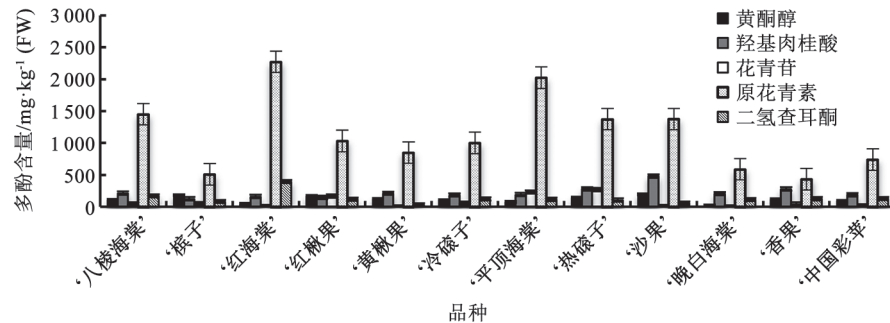


图1 12个河北省苹果地方品种的多酚含量

Fig.1 Polyphenol contents in 12 apple landraces grown in Hebei Province

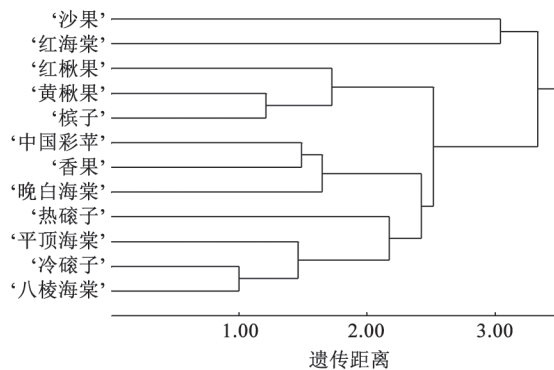


图2 12个河北省苹果地方品种聚类图

Fig.2 Cluster of 12 apple landraces grown in Hebei Province

海棠’、‘平顶海棠’、‘热碓子’和‘冷碓子’聚为一类, ‘晚白海棠’、‘香果’和‘中国彩苹’聚为一类, ‘槟子’、‘黄楸果’和‘红楸果’聚为一类, 随后这3类聚为一大类; ‘沙果’和‘红海棠’单独聚为一类。

## 3 多酚组分间的相关性分析

对所测的22个多酚组分进行相关性分析, 除了羟基肉桂酸, 其他4类酚类物质组内不同组分在0.05或0.01水平上存在显著正相关, 如黄酮醇中的槲皮素3-木糖苷与槲皮素3-半乳糖苷、槲皮素3-阿拉伯糖苷和槲皮素3-鼠李糖苷分别在0.01和0.05水平上的相关系数为0.827、0.982和0.696 (数据未列)。从通过各多酚组分间相关系数所构建的热图可以看出, 具有相同代谢途径的同类多酚物质基

本聚为一类, 如根皮苷、3-羟根皮素2'-木糖葡萄糖苷、根皮素2'-木糖苷和3-羟根皮素2'-葡萄糖苷聚在一起, 原花青素和花青苷类物质聚在一起, 其他各类存在类似情况, 但肉桂酸、4-咖啡酰奎宁酸、绿原酸等与黄酮醇类物质聚在一起, 主要是由于羟基肉桂酸类物质为多酚类物质合成的中间产物(图3)。

## 讨论

苹果多酚类物质的组成和含量在品种、基因型、不同成熟度间存在差异(van der Sluis等2001); 绿原酸、原花青素、表儿茶素是苹果中的主要多酚物质(王思新等2003; 乜兰春和孙建设2005; 宋焯等2006)。本研究中12个河北省苹果地方品种的主要酚类物质为绿原酸和原花青素, 平均含量均超过100 mg·kg<sup>-1</sup> (FW), 与前人研究结果基本相符(王思新等2003; 宋焯等2006)。水果中的酚类物质含量与其色泽密切相关, 着色系及红肉类型比浅色系及黄白肉类型多酚含量高(聂继云等2010b; 白鸽等2014; 魏新翠等2015; 项亚等2016)。本研究中的河北省苹果地方品种多酚含量较多的为‘红海棠’和‘平顶海棠’, 含量最低的为‘晚白海棠’, ‘红海棠’和‘平顶海棠’果面均着鲜红色, 果肉黄色, ‘晚白海棠’果面白色, 果肉也为白色; 与其他着色苹果花青苷的研究结果一致(聂继云等2010b; 项亚等2016)。

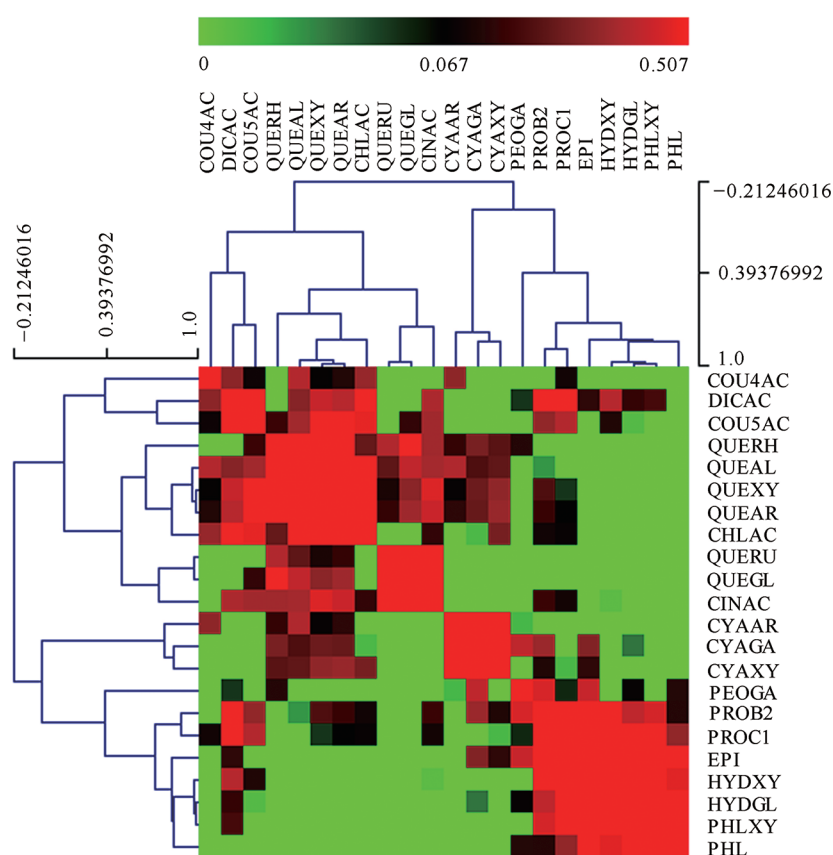


图3 12个河北省苹果地方品种多酚含量的相关性分析

Fig.3 Correlation matrix of polyphenol content in 12 apple landraces grown in Hebei Province

已经报道的与苹果着色相关的花青苷类物质有矢车菊素3-阿拉伯糖苷、矢车菊素3-半乳糖苷和矢车菊素3-木糖苷等(Tsao等2003; Liater等1994; Vrhovsek等2004), 关于芍药色素3-半乳糖苷的报道较少, 在河北地方品种‘八棱海棠’、‘平顶海棠’、‘红楸果’、‘冷碾子’、‘红海棠’和‘沙果’中均检测到芍药色素3-半乳糖苷, 其中‘平顶海棠’的含量高达  $34.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (FW), 这为我国苹果地方品种多酚类物质组成多样性的研究提供了参考依据。

多酚类物质被称为“第七类营养素”(凌关庭2000), 这类物质具有强抗氧化性, 抗肿瘤、抗突变、抑菌、防龋齿等多种功效, 是一种新型的天然生物活性物质(杨薇等2012; 刘贤青等2016)。在苹果果实中多酚类物质含量丰富, 但其组成和含量存在差异, 野生资源虽然多酚含量高, 但果小味涩, 无食用价值, 利用野生资源与栽培品种进行杂交存在远缘杂交障碍(王永清等2012)。河北省苹果地方品种的多酚含量介于栽培种和野生种之

间, 可以作为我国地方苹果品种加工利用及药用物质提取的原材料; 同时有助于我国高多酚含量苹果地方品种的推广和种植, 可与栽培品种杂交进行种质创新, 选育高多酚含量的新品种。

野生苹果种的多酚含量多超过  $10\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  以上(聂继云等2010a; 周兰等2013), 栽培苹果的多酚含量介于  $1\,000 \sim 2\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  之间(孟晶岩等2006; 王皎等2013), 新疆野苹果多酚含量为  $2\,000 \sim 12\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (张小燕等2008; Zhao等2015)。本研究中12个河北省苹果地方品种总酚含量(以22个酚类组分的总和计)为  $928.54 \sim 2\,888.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (FW), 超过  $2\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (FW) 的有4个品种, 基本趋势高于苹果栽培品种, 低于苹果野生种。由此可以看出, 在苹果由野生到栽培的遗传演化过程中, 多酚的含量呈降低的趋势, 地方品种在苹果演化过程中可能处于野生到栽培的过渡类型。

类黄酮等多酚物质的含量和组分可以作为苹果属植物分类的依据(Williams 1982)。本研究以

河北省苹果地方品种多酚组分和含量为依据进行聚类分析,发现具有相似遗传背景的基本聚为一类。如‘八棱海棠’、‘平顶海棠’、‘冷碓子’和‘热碓子’聚为一类,它们均属于平顶品种群(陆秋农和贾定贤1999),亲本为‘山荆子’和‘海棠果’(河北省农林科学院昌黎果树研究所1985)。“晚白海棠”、‘香果’和‘中国彩苹’聚为一类,它们同属于绵苹果品种群(陆秋农和贾定贤1999),‘香果’的亲本为‘中国彩苹’和‘沙果’,‘晚白海棠’的遗传背景无从考证,推测其可能携带有‘香果’、‘中国彩苹’或‘沙果’的基因。‘槟子’、‘黄楸果’和‘红楸果’聚为一类,它们同属于楸果品种群,‘黄楸果’和‘红楸果’的亲本为‘沙果’和‘海棠果’,‘槟子’的亲本为‘苹果’和‘沙果’。‘红海棠’和‘沙果’聚为一类,区别与其他品种,推测‘红海棠’可能携带有‘沙果’的基因,相对于其他品种,‘红海棠’具有和‘沙果’更近的遗传背景。但其精确的遗传背景,需要进一步进行分子标记鉴定、基因组测序等更精准的手段进行研究。

### 参考文献

- Bai G, Guo YR, Chen L, Zhang XR (2015). Relationship of coloration with polyphenols and relative enzyme activities during low-temperature storage of apple. *Food Sci*, 36 (6): 246–250 (in Chinese with English abstract) [白鸽, 郭雨蓉, 陈磊, 张晓瑞(2015). 苹果着色与冷藏期间多酚及相关酶活性的关系. *食品科学*, 36 (6): 246–250]
- Changli Fruit Institute, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences (ed) (1985). *Apple Flora of Hebei Province*. Beijing: Agricultural Press, 121–200 (in Chinese) [河北省农林科学院昌黎果树研究所主编(1985). *河北省苹果志*. 北京: 农业出版社, 121–200]
- Ling GT (2000). Polyphenols are called as “seventh nutrients”. *Chin Food Add*, (1): 28–37 (in Chinese with English abstract) [凌关庭(2000). 有“第七类营养素”之称的多酚类物质. *中国食品添加剂*, (1): 28–37]
- Lister CE, Lancaster JE, Sutton KH, Walker JRL (1994). Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar. *J Sci Food Agric*, 64 (2): 155–161
- Liu JC, Wang SX, Jiao ZG, Ma CH, Wang YL, Guo HX, Wang XY, Li YJ (2005). Studies on antioxidant activities of apple polyphenol extracts *in vitro*. *J Fruit Sci*, 22 (2): 106–110 (in Chinese with English abstract) [刘杰超, 王思新, 焦中高, 马彩红, 王亚绿, 郭焕霞, 王晓燕, 李银杰(2005). 苹果多酚提取物抗氧化活性的体外试验. *果树学报*, 22 (2): 106–110]
- Liu X, Cao YS, Zhang ZW (eds) (2008). *Basic Descriptors and Terms for Crop*. Beijing: China Agriculture Press, 29 (in Chinese) [刘旭, 曹永生, 张宗文主编(2008). *农作物种质资源基本描述规范和术语*. 北京: 中国农业出版社, 29]
- Liu XQ, Tu H, Wang SC, Zhang HY, Luo J, Xu J (2016). Flavonoid composition of *Citrus* juice sacs determined by high-performance liquid chromatography coupled with tandem electrospray ionization mass spectrometry. *Plant Physiol J*, 52 (5): 762–770 (in Chinese with English abstract) [刘贤青, 涂虹, 王守创, 张红艳, 罗杰, 徐娟(2016). 不同类型柑橘果实汁胞中类黄酮的液相色谱质谱联用分析. *植物生理学报*, 52 (5): 762–770]
- Lu QN, Jia DX (eds) (1999). *Volume Apples, Fruits Tree of China*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, China Forestry Press (in Chinese) [陆秋农, 贾定贤主编(1999). *中国果树志·苹果卷*. 北京: 中国农业科技出版社, 中国林业出版社]
- Meng JY, Wang XP, Duan ZM, Yang C, Cao X, Sun JJ, Cao GS (2006). Study on polyphenol content of apple species and their extract utilization. *J Shanxi Agric Sci*, 34 (4): 36–38 (in Chinese with English abstract) [孟晶岩, 王贤萍, 段泽敏, 杨春, 曹选, 孙俊杰, 曹贵寿(2006). 不同苹果品种多酚含量的比较与提取利用研究. *山西农业科学*, 34 (4): 36–38]
- Nie JY, Lv DG, Li J, Liu FZ, Li HF, Wang K (2010a). A preliminary study on the flavonoids in fruits of 22 apple germplasm resources. *Sci Agric Sin*, 43 (21): 4455–4462 (in Chinese with English abstract) [聂继云, 吕德国, 李静, 刘凤之, 李海飞, 王昆(2010a). 22种苹果种质资源果实类黄酮分析. *中国农业科学*, 43 (21): 4455–4462]
- Nie JY, Lv DG, Li J, Liu FZ, Li HF, Xu GF, Wu YL (2010b). Studies on composition and content of flavonoids in fruit of ‘Nagafu 2’ apple. *Acta Horti Sin*, 37 (10): 1559–1566 (in Chinese with English abstract) [聂继云, 吕德国, 李静, 刘凤之, 李海飞, 徐国峰, 毋永龙(2010b). ‘长富2号’苹果果实类黄酮组成和含量研究. *园艺学报*, 37 (10): 1559–1566]
- Nie LC, Sun JS (2005). Study on the phenolic compound contents in apple of different cultivars. *J Chin Food Sci Technol*, 5 (3): 118–121 (in Chinese with English abstract) [乜兰春, 孙建设(2005). 不同品种苹果果实主要酚类物质含量的研究. *中国食品学报*, 5 (3): 118–121]
- Song Y, Zhai H, Du YP, Chen F, Wei SW (2006). Polyphenolic compounds and antioxidant capacity in processing apple cultivars. *J Fruit Sci*, 23 (6): 793–797 (in Chinese with English abstract) [宋焯, 翟衡, 杜远鹏, 陈锋, 魏树伟(2006). 苹果加工品种多酚提取物的抗氧化效果分析. *果树学报*, 23 (6): 793–797]
- Song Y, Zhai H, Liu JB, Du YP, Chen F, Wei SW (2007). Polyphenolic compound and degree of browning in processing apple varieties. *Sci Agric Sin*, 40 (11): 2563–2568 (in Chinese with English abstract) [宋焯, 翟衡, 刘金豹, 杜远鹏, 陈锋, 魏树伟(2007). 苹果加工品种果实中的酚类物质与褐变研究. *中国农业科学*, 40 (11): 2563–2568]
- Tsao R, Yang R, Young JC, Zhu HH (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *J Agric Food Chem*, 51: 6347–6353
- van der Sluis AA, Dekker M, de Jager A, Jongen WMF (2001). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J Agric Food Chem*, 49: 3606–3613

- Vrhovsek U, Rigo A, Tonon D, Mattivi F (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *J Agric Food Chem*, 52: 6532–6538
- Wang DJ, Wang K, Gao Y, Liu LJ, Gong X (2016). Study on the pollen morphology, taxonomy and clustering of the local varieties of apples. *J Plant Genet Resour*, 17 (1): 84–91 (in Chinese with English abstract) [王大江, 王昆, 高源, 刘立军, 龚欣(2016). 苹果地方品种花粉形态分类及聚类研究. *植物遗传资源学报*, 17 (1): 84–91]
- Wang J, Gao Y, Zhao YM, Liu DL (2013). Determination of polyphenols in apple pericarp and apple grunt. *Food Res Dev*, 34 (20): 87–89 (in Chinese with English abstract) [王皎, 高颖, 赵艳敏, 刘岱琳(2013). 测定不同品种苹果果皮和果肉中总多酚的含量. *食品研究与开发*, 34 (20): 87–89]
- Wang SX, Liu JC, Jiao ZG, Zhang SN, Yang L (2003). Changes of polyphenols during fruit development in apples. *J Fruit Sci*, 20 (6): 427–431 (in Chinese with English abstract) [王思新, 刘杰超, 焦中高, 张顺妮, 杨丽(2003). 苹果中多酚物质及其在果实发育过程中的变化. *果树学报*, 20 (6): 427–431]
- Wang YQ, Du K, Yang ZW, Tao L, Yang Q, Fan JX, Deng RJ (2012). Advances in the studies of distant hybridization in fruit crops. *J Fruit Sci*, 29 (3): 440–446 (in Chinese with English abstract) [王永清, 杜奎, 杨志武, 陶炼, 杨琴, 范建新, 邓仁菊(2012). 果树远缘杂交育种研究进展. *果树学报*, 29 (3): 440–446]
- Wei XC, Li HH, Cai XY, Liang Z, Tang DD (2015). Polyphenols and antioxidant activity analysis of 15 red flesh crabapples. *Sci Technol Food Ind*, 36 (20): 133–137 (in Chinese with English abstract) [魏新翠, 李厚华, 蔡雪雁, 梁峥, 糖豆豆(2015). 15种红果肉海棠多酚及抗氧化活性分析. *食品工业科技*, 36 (20): 133–137]
- Williams AH (1982). Chemical evidence from the flavonoids relevant to the classification of *Malus* species. *Bot J Linn Soc*, 84 (1): 31–39
- Xiang Y, Zhao RX, Lai FN, Sun X, Sun XH, Dai HY, Zhang YG (2016). Components of flavonoids and antioxidant activity analysis of the extracts from red-flesh apple peel. *Plant Physiol J*, 52 (9): 1353–1360 (in Chinese with English abstract) [项亚, 赵瑞雪, 赖方秬, 孙欣, 孙晓红, 戴洪义, 张玉刚(2016). 红肉苹果果皮类黄酮组分及抗氧化活性分析. *植物生理学报*, 52 (9): 1353–1360]
- Zhang XY, Chen XS, Peng Y, Liu ZC, Shi J, Wang HB (2008). Genetic diversity of phenolic compounds in *Malus sieversii*. *Acta Horticult Sin*, 35 (9): 1351–1356 (in Chinese with English abstract) [张小燕, 陈学森, 彭勇, 刘遵春, 石俊, 王海波(2008). 新疆野苹果多酚物质的遗传多样性. *园艺学报*, 35 (9): 1351–1356]
- Zhao JR, Liu GJ, Chang RF, Cao K, Shen F, Wu T, Wang Y, Han ZH, Zhang XZ (2015). Diversity of flesh polyphenols and their progressive dilution during fruit expansion in *Malus* germplasm. *Sci Horticult*, 197: 461–469
- Zhou L (2013). Study on the concentration changes and related genes of flavonoids in apple (PhD thesis). Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese with English abstract) [周兰(2013). 苹果果实发育中类黄酮含量变化及相关基因的研究(博士论文). 北京: 中国农业科学院]
- Zhou L, Wang Q, Cong PH (2013). Chorogenic acid and total flavonoids changes in fruit of apple (*Malus × domestica* Borkh.) during development and ripening. *J Agric Sci Yanbian Univ*, 35 (1): 6–10 (in Chinese with English abstract) [周兰, 王强, 丛佩华(2013). 苹果果实发育过程中绿原酸和总黄酮含量的变化. *延边大学农学学报*, 35 (1): 6–10]

## Analysis of genetic background and characteristics of polyphenol composition and content in fruits of apple landraces grown in Hebei Province

WANG Da-Jiang<sup>1,2</sup>, WANG Kun<sup>1,2,\*</sup>, GAO Yuan<sup>1,2</sup>, ZHAO Ji-Rong<sup>1,2</sup>, LIU Li-Jun<sup>1,2</sup>, LI Lian-Wen<sup>1,2</sup>, LI Jing<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng, Liaoning 125100, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Horticulture Crops Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Xingcheng, Liaoning 125100, China

**Abstract:** In order to investigate the genetic background of apple landraces in Hebei Province, polyphenol composition and content were analyzed in 12 apple landraces grown in Hebei Province using ultra performance liquid chromatography (UPLC) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). The results showed that 22 polyphenol compositions identified were classified as 5 groups in 12 apple landraces. Procyanidins were the major polyphenols, and composition and content of polyphenols mostly indicated significant difference among samples from different apple landraces, whose coefficients of variation were 40.48%–151.68%. ‘Honghaitang’ had the highest content of procyanidins and dihydrochalcones than others, ‘Shaguo’ had the highest content of hydroxycinnamic acids and flavonols than others, and ‘Regunzi’ had the highest content of anthocyanins than others. The cluster results showed that the varieties of similar genetic background were clustered together, and we speculated that ‘Wanbaihaitang’ carried the genes from ‘Shaguo’, ‘Zhongguocaiping’, or ‘Binzi’ respectively, or carried the genes from both two or all three above, and ‘Honghaitang’ carried the genes from ‘Shaguo’. The Pearson’s correlation showed that the strong correlations were observed between these compositions; most inter-type of polyphenols clustered together. The results provide a theoretical basis for application of apple landraces in Hebei Province and the genetic evolution research.

**Key words:** apple; landraces; polyphenols; genetic background

---

Received 2017-02-22 Accepted 2017-07-21

This work was supported by Fundamental Research Funds for Central Non-profit Scientific Institution (Grant No. 1610182016014) and Chinese Academy of Agricultural Sciences-Agricultural Science and Technology Innovation Program (Grant No. CAAS-ASTIP).

\*Corresponding author (E-mail: wangkun5488@163.com).