

宿子文, 蔡志翔, 孙 朦, 等. 植物中绿原酸生物合成研究进展[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(6): 1414-1426.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.06.018

植物中绿原酸生物合成研究进展

宿子文^{1,2}, 蔡志翔¹, 孙 朦¹, 沈志军¹, 马瑞娟¹, 俞明亮^{1,2}, 严 娟¹

(1. 江苏省农业科学院果树研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014; 2. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 绿原酸是植物体内重要的有机酚酸类物质, 可以作为营养保健品和食品添加剂, 具有多种功能特性。在植物中, 绿原酸通常是以各种同分异构体和衍生物的形式存在。目前, 已有 3 条主要的绿原酸合成途径被证实, 其生物合成不仅受结构基因(*PAL*、*C4H*、*4CL*、*C3H*、*HCT*、*HQT* 等)和转录因子(*MYB*、*WRKY*、*bHLH* 等)的表达调控, 还受多种非生物因素(激素、光照、温度、水分、无机盐等)的影响。本文从绿原酸的生物活性、种类、生物合成以及影响因素这几个方面进行了阐述, 为植物中绿原酸的生物合成研究和开发利用提供基础。

关键词: 绿原酸; 生物活性; 生物合成

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)06-1414-13

Research progress on biosynthesis of chlorogenic acid in plants

SU Zi-wen^{1,2}, CAI Zhi-xiang¹, SUN Meng¹, SHEN Zhi-jun¹, MA Rui-juan¹, YU Ming-liang^{1,2}, YAN Juan¹

(1. Institute of Pomology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China; 2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Chlorogenic acid (CGA) is an important organic phenolic acid in plants, which has multifunctional properties as nutraceutical supplement and food additive. In plants, chlorogenic acids are usually present in structural forms such as various derivatives and isoforms. At present, there were three major routes for chlorogenic acid synthesis. Its biosynthesis was not only regulated by the structural genes (*PAL*, *C4H*, *4CL*, *C3H*, *HCT*, *HQT*) and transcription factors (*MYB*, *WRKY*, *bHLH*), but also affected by a variety of abiotic factors (hormones, light, temperature, water, inorganic salts). Therefore, we summarized the biological activity, type, biosynthesis and influencing factors of chlorogenic acid in this paper, aiming to provide a basis for the biosynthesis research and utilization of chlorogenic acid in plants.

Key words: chlorogenic acid; biological activities; biosynthesis

绿原酸(Chlorogenic acid, CGA)是植物体内一种重要的苯丙素类次生代谢产物, 主要存在于忍冬科、茄科和菊科植物中。在金银花、杜仲、咖

啡等药用植物中, 绿原酸的含量非常高^[1-2]; 马铃薯、番茄、胡萝卜等蔬菜中也含有绿原酸^[3-6]; 此外, 绿原酸也是众多水果果肉中主要的酚类物质, 例如桃^[7]、蓝莓^[8]、梨^[9]、草莓^[10]和苹果^[11]。作为营养保健品和食品添加剂, 绿原酸兼具多种功能。在植物体内, 绿原酸通常是以各种同分异构体和衍生物的形式存在, 分为单咖啡酰奎尼酸(monoCQA)、二咖啡酰奎尼酸(diCQA)和三咖啡酰奎尼酸(triCQA)等^[12]。目前, 已有 3 条绿原酸合成途径被证实, 而羟基肉桂酰辅酶 A: 奎尼

收稿日期: 2022-10-10

基金项目: 江苏省自然科学基金项目(BK20200278); 现代农业产业技术体系建设项目(CARS-30)

作者简介: 宿子文(1995-), 女, 山东泰安人, 博士研究生, 研究方向为桃育种和果实品质分子机理研究。(E-mail) 2020204007@stu.njau.edu.cn

通讯作者: 严 娟, (E-mail) yanjuanjaas@aliyun.com

酸-羟基肉桂酰转移酶(*HQT*)催化途径被认为是最主要的合成途径。近年来,随着分子生物学技术的飞速发展,对植物绿原酸生物合成与代谢调控分子机制的研究也取得了一定进展,一些结构基因和转录因子对植物绿原酸生物合成的调控作用也逐渐明晰^[3,13]。除了受内部遗传因素的影响外,绿原酸的生物合成还受激素、光照、温度、水分和无机盐等外界因素的影响。本文从绿原酸的生物活性、种类、生物合成以及影响因素这几个方面进行阐述,并对研究方向提出展望,旨在为植物中绿原酸的生物合成研究和开发利用提供理论依据。

1 绿原酸的生物活性

研究结果表明,绿原酸是兼具多种功能的有益成分。一方面,作为一种营养保健品,绿原酸具有抗菌消炎、抗肿瘤、降血糖、降血脂等生物活性,可用于预防和治疗代谢综合征及疾病^[14]。另一方面,作为食品添加剂,绿原酸不仅具有清除自由基、抗氧化和保鲜等多种生理活性,可以预防水果蔬菜中酶促褐变^[15],而且具有广谱抗菌活性,可抑制和灭杀多种细菌、真菌、酵母菌、霉菌和变形虫,对桃、苹果、猕猴桃和番茄等易发病害的抗病效果显著^[16-18]。此外,绿原酸在植物抗逆生理上也发挥着重要作用,可以提高植物消除活性氧和自由基的能力,防御各种低温、干旱、紫外线以及病虫害等生物和非生物胁迫^[13]。

2 绿原酸类物质的种类

广义上,绿原酸类物质是指奎尼酸与反式肉桂酸(咖啡酸、香豆酸和阿魏酸)缩合而成的酯类化合物,包括咖啡酰奎尼酸(*Caffeoylquinic acid*)、对香豆酰奎尼酸(*p-Coumaroylquinic acid*)和阿魏酰奎尼酸(*Feruloylquinic acid*)^[12]。狭义上,绿原酸是由咖啡酸(*Caffeic acid*)与奎尼酸(*Quinic acid*)生成的酚酸类物质,即咖啡酰奎尼酸(*Caffeoylquinic acid*)。在植物体内,绿原酸通常是以各种同分异构体和衍生物的形式存在,按照咖啡酰的结合数目和位置进行分类,可分为单咖啡酰奎尼酸(*monoCQA*)、二咖啡酰奎尼酸(*diCQA*)和三咖啡酰奎尼酸(*triCQA*)等(表1)。此外,一些酯化的绿原酸也属于绿原酸,如绿原酸甲酯(*methyl-3-caffeoylquinic acid*)和绿原酸

乙酯(*ethyl-3-caffeoylquinic acid*)^[19]。

表1 植物中常见的绿原酸类化合物

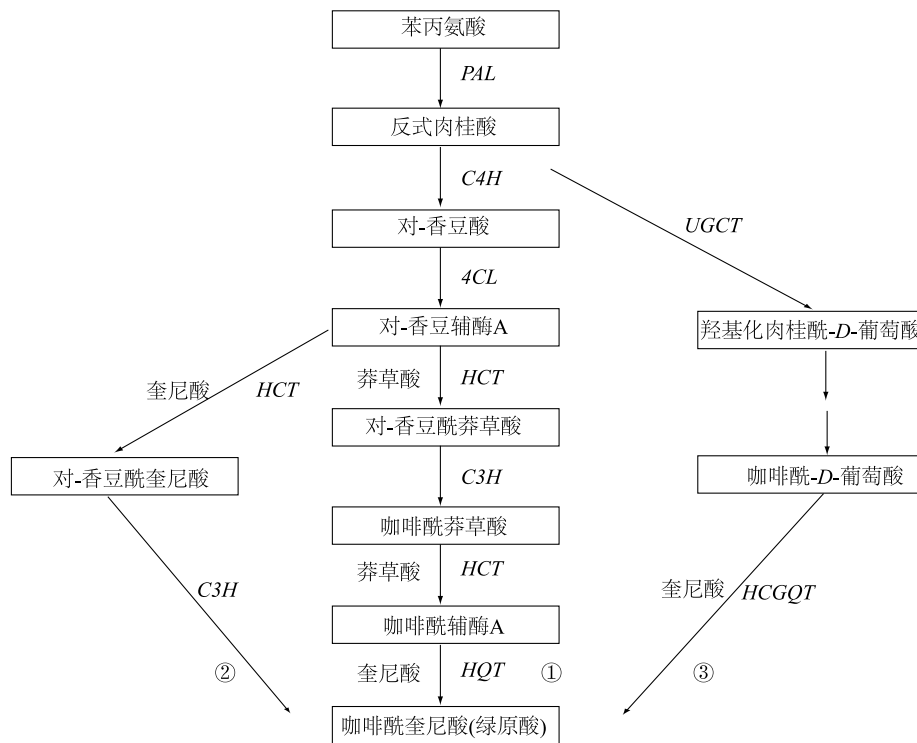
Table 1 Common chlorogenic acid compounds in plants

分类	中文名称	英文名称
单咖啡酰奎尼酸	绿原酸	3-caffeoylquinic acid
	隐绿原酸	4-caffeoylquinic acid
	新绿原酸	5-caffeoylquinic acid
二咖啡酰奎尼酸	莱菔素	1,3-dicaffeoylquinic acid
	异绿原酸 A	3,5-dicaffeoylquinic acid
	异绿原酸 B	3,4-dicaffeoylquinic acid
	异绿原酸 C	4,5-dicaffeoylquinic acid
三咖啡酰奎尼酸	3,4,5-三咖啡酰奎尼酸	3,4,5-tricaffeoylquinic acid
咖啡酰奎尼酸衍生物	绿原酸甲酯	methyl-3-caffeoylquinic acid
	绿原酸乙酯	ethyl-3-caffeoylquinic acid

3 绿原酸的生物合成

3.1 绿原酸生物合成途径

绿原酸的生物合成属于苯丙烷代谢通路,不同的物种可能进化出不同的合成途径,甚至在同一个物种内每种途径的重要性也相对不同,目前,已经有3条绿原酸合成途径被证实(图1)。其中一是羟基肉桂酰辅酶A:奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶(*HQT*, EC 2.3.1.99)催化咖啡酰辅酶A和奎尼酸的酯交换途径,该途径是绿原酸生物合成的主要途径,通过瞬时和稳定转基因技术已在多个富含绿原酸的植物中得到了验证,如烟草、番茄、朝鲜蓟和咖啡^[2]。二是羟基肉桂酰辅酶A:莽草酸/奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶(*HCT*, EC 2.3.1.133)和对香豆酸-3-羟化酶, (*C3H*, EC 1.14.13.36)催化途径^[20]。在拟南芥细胞中,*HCT*和*C3H*都具有很高的活性,但并未检测到绿原酸,并且*HCT*对作为酰基受体的奎尼酸没有高亲和力,说明这条途径可能不是绿原酸的主要合成途径^[20-21]。三是羟基化肉桂酰-D-葡萄糖:奎尼酸羟基化肉桂酰转移酶催化途径。在一些*HQT*活性较低的细胞器中,咖啡酰苷作为活性中间体,由羟基化肉桂酰-D-葡萄糖:奎尼酸羟基化肉桂酰转移酶(*HCGQT*)催化咖啡酰-D-葡萄糖和D-奎尼酸生成绿原酸,因此推断*HCGQT*是植物中绿原酸合成途径的最后一个关键酶,目前该途径只在少数植物中发现,如红薯根^[22]。



PAL: 苯丙氨酸氨解酶; *C4H*: 肉桂酸-4-羟化酶; *4CL*: 4-香豆酸-辅酶 A 连接酶; *HCT*: 羟基肉桂酰辅酶 A: 莽草酸/奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶; *C3H*: 对-香豆酸-3-羟化酶; *HQT*: 奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶; *UGCT*: UDP-葡萄糖肉桂酸葡萄糖基转移酶; *HCGQT*: 羟基化肉桂酰 D-葡萄糖: 奎尼酸羟基化肉桂酰转移酶。①羟基肉桂酰辅酶 A: 奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶催化途径; ②羟基肉桂酰辅酶 A: 莽草酸/奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶和对香豆酸-3-羟化酶催化途径; ③羟基化肉桂酰 D-葡萄糖: 奎尼酸羟基化肉桂酰转移酶催化途径。

图 1 植物绿原酸生物合成途径

Fig.1 The pathway of chlorogenic acid biosynthesis

3.2 绿原酸生物合成相关结构基因

绿原酸的生物合成受其结构基因的影响, 这些结构基因可以直接编码绿原酸生物合成途径中的各种生物活性酶(表 2), 包括苯丙氨酸氨解酶(*PAL*)、肉桂酸-4-羟化酶(*C4H*)、4-香豆酸-辅酶 A 连接酶(*4CL*)、对-香豆酸-3-羟化酶(*C3H*)、羟基肉桂酰辅酶 A: 莽草酸/奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶(*HCT*)、羟基肉桂酰辅酶 A: 奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶(*HQT*)、UDP-葡萄糖肉桂酸葡萄糖基转移酶(*UGCT*)和羟基化肉桂酰 D-葡萄糖: 奎尼酸羟基化肉桂酰转移酶(*HCGQT*)^[23-25]。这些酶不仅参与绿原酸的生物合成, 而且直接或间接地参与催化其他代谢途径的次生代谢物的生物合成, 如木质素、花青素、黄酮和生物碱。迄今为止, 大多数对于绿原酸合成相关基因的功能研究都基于 3 种技术: (1) 基因表达分析, 检查基因表达谱与绿原酸含量的相关

性; (2) 转基因功能验证, 包括过表达(Over-expression, OE)、干扰(Interference)、基因敲除(Knockout, KO)等瞬时或稳定表达; (3) 体外酶促反应, 通过构建原核或真核表达体系和体外模拟实验, 验证基因表达产物的相关功能。

苯丙氨酸氨解酶(*PAL*)是苯丙烷代谢途径的第一个酶, 也是连接初生代谢和次生代谢途径的重要枢纽。在烟草中, 过表达 *PAL* 基因显著提高了转基因植株叶片的绿原酸含量^[26]。在咖啡中, 3 个 *PAL* 基因被表征并分为 2 个不同的组, 其中 *CcPAL1* 和 *CcPAL3* 与绿原酸的积累有关, 而 *CcPAL2* 更多地促进类黄酮的积累^[27]。在甘薯中, 过表达 *IbPAL1* 促进了叶片中绿原酸积累和相关基因的表达, 刺激了茎次生木质部细胞扩张, 抑制了贮藏根的形成^[28]。在苹果中, *MdPAL3* 的转录水平与绿原酸含量显著相关, 可能在果实绿原酸积累中发挥重要作用^[11]。

表 2 植物中已鉴定的绿原酸生物合成相关结构基因

Table 2 Structural genes involved in chlorogenic acid biosynthesis in plants

基因	基因编码的酶	酶编号	植物来源	验证方法	参考文献
<i>PAL</i>	苯丙氨酸氨解酶	EC 4.3.1.24	烟草、甘薯、咖啡、苹果	基因表达,转基因(OE)	[11]、[26]、[27]、[28]
<i>C4H</i>	肉桂酸-4-羟化酶	EC 1.14.13.11	金银花、梨	基因表达	[9]、[29]、[30]
<i>4CL</i>	4-香豆酸-CoA 连接酶	EC 6.2.1.12	金银花、桃	基因表达	[23]、[29]、[31]
<i>C3H</i>	对香豆酸-3-羟化酶	EC 1.14.13.36	朝鲜蓟、金银花、桃	基因表达,转基因(OE),体外酶促反应	[23]、[32]、[33]
<i>HCT</i>	羟基肉桂酰辅酶 A:莽草酸/奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶	EC 2.3.1.133	烟草、番茄、杨树、桃	基因表达,转基因(OE, VIGS),体外酶促反应	[20]、[21]、[23]
<i>HQT</i>	羟基肉桂酰辅酶 A:奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶	EC 2.3.1.99	烟草、番茄、金银花、朝鲜蓟	基因表达,转基因(OE, RNAi),体外酶促反应	[2]、[22]、[34]、[35]
<i>UGCT</i>	UDP-葡萄糖肉桂酸葡萄糖基转移酶	EC 2.4.1.177	红薯	体外酶促反应	[22]、[36]
<i>HCGQT</i>	羟化肉桂酰 D-葡萄糖:奎尼酸-羟化肉桂酰转移酶	-	红薯	体外酶促反应	[22]、[36]

OE:过表达;RNAi:RNA 干扰;VIGS:基因沉默。

肉桂酸 4-羟化酶(*C4H*)属于细胞色素氧化酶(*P450*)家族中的 *CYP73A* 亚家族,能催化肉桂酸生成香豆酸,进而进入苯丙酸类、黄酮类、木质素等化合物的合成途径^[37]。*C4H* 参与木质素生物合成途径,缺乏 *C4H* 的植物不仅总木质素和木质素单体含量显著降低^[38],而且木质素的组成也发生了变化,*C4H* 表达的下调导致紫丁香基木质素(S-木质素)和愈创木基木质素(G-木质素)的比例降低^[39]。在梨果实中,木质素的合成受 *C4H* 酶活性的影响,*C4H* 基因表达水平与其酶活性呈正相关,植物组织中 *C4H* 基因的高表达伴随着较高的木质素含量^[9]。在金银花中,*LjC4H2* 已被证明是调节绿原酸含量的关键基因之一^[29-30]。

4-香豆酸-CoA 连接酶(*4CL*)位于苯丙氨酸代谢途径终端位置,是连接木质素、绿原酸及黄酮类物质合成代谢下游分支途径的关键酶,可以催化多种羟基肉桂酸衍生物^[40]。研究结果表明,拟南芥中 *4CL* 基因家族的 4 个成员可以分为 2 个亚组,其中组 I 的成员(*At4CL1*、*At4CL2*、*At4CL4*)主要参与木质素的生物合成;而组 II 的成员(*At4CL3*)主要参与类黄酮的生物合成^[41-42]。在金银花中,*Lj4CL2* 基因与绿原酸等化合物的合成有关^[29]。在桃果实中,*Pp4CL* 基因也可能参与了绿原酸的生物合成^[23,31]。

对-香豆酸-3-羟化酶(*C3H*)属于细胞色素氧化酶(*P450*)家族中的 *CYP98* 亚家族,2001 年由 Schoch 等首次从拟南芥中分离得到,参与木质素和

绿原酸的生物合成。在木质素合成途径中,*C3H* 主要控制植物中木质素单体的转化^[43]。在绿原酸合成途径中,*C3H* 可以分别催化香豆酰奎尼酸和对香豆酰基莽草酸生成咖啡酰奎尼酸(绿原酸)和咖啡酰莽草酸^[1,15]。然而,在拟南芥中 *C3H* 催化生成中间代谢物,而不合成绿原酸^[20-21]。目前,*C3H* 基因已被证明是金银花、桃等植物中绿原酸合成途径中的关键基因,其基因表达量与绿原酸含量呈明显的正相关^[23,32-33]。

羟基肉桂酰辅酶 A:莽草酸/奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶(*HCT*)和羟基肉桂酰辅酶 A:奎尼酸-羟基肉桂酰转移酶(*HQT*)都含有 HXXXD 和 DFGWG 这 2 个保守序列,属于 BAHD 酰基转移酶家族。然而,它们的酶学和分子表达特性不同,在不同植物中的作用和功能也有差异,*HCT* 可以同时以莽草酸和奎尼酸作为底物,而 *HQT* 只以奎尼酸作为底物^[44-45]。其中,*HCT* 可以参与木质素和绿原酸的生物合成。在木质素合成途径中,*HCT* 可以控制木质素不同单体间的相互转化,拟南芥和紫花苜蓿中 *HCT* 基因表达的下调导致木质素水平大幅降低^[46]。在绿原酸合成途径中,*HCT* 不仅可以正向催化羟化香豆酰辅酶 A 与莽草酸或奎尼酸反应,生成对香豆酰莽草酸或对香豆酰奎尼酸,还可以逆向催化咖啡酰莽草酸形成咖啡酰辅酶 A^[20-21]。同样的,桃子 *PpHCT* 基因表达水平呈现与绿原酸含量相同的变化趋势,*HCT* 可能是绿原酸生物合成的关键基因^[23]。到目

前为止,番茄^[2]、梅^[47]、朝鲜蓟^[3]、毛白杨^[48]、黄瓜^[49]、金银花^[31]和梨^[9]等多个物种中 *HCT* 基因被克隆和鉴定。作为绿原酸生物合成下游的关键限速酶,*HQT* 的生物学功能已在多种植物中得到验证,例如在番茄和烟草中,*HQT* 的过表达导致绿原酸水平升高,而 *HQT* 的 RNAi 降低了绿原酸含量^[2,22]。此外,*HQT* 基因也参与了朝鲜蓟、金银花、马铃薯等植物的绿原酸合成^[34-35]。

3.3 绿原酸生物合成相关转录因子

除结构基因外,一些转录因子 (Transcription factor, TF) 也被报道调控绿原酸的生物合成,这些转

录因子往往可以特异性结合一个或多个结构基因的启动子元件,通过激活或抑制这些结构基因的表达从而调控绿原酸的生物合成,包括 MYB 家族、WRKY 家族、ERF 家族和 bHLH 家族等(表 3)。目前,染色质免疫共沉淀 (Chromatin immunoprecipitation, ChIP)、凝胶迁移试验 (Electrophoretic mobility shift assay, EMSA)、酵母单杂交试验 (Yeast one hybrid, Y1H)、双荧光素酶报告试验 (Dual-luciferase reporter assay, Dual-LUC) 等试验方法被广泛用于鉴定转录因子对靶基因的转录激活或抑制作用^[50]。

表 3 植物中已鉴定的绿原酸生物合成相关转录因子

Table 3 Transcription factors involved in chlorogenic acid biosynthesis in plants

转录因子	基因家族成员	植物来源	验证方法	参考文献
MYB	<i>DcMYB3</i> 、 <i>DcMYB5</i>	胡萝卜	Y1H 筛库、Dual-LUC	[51]
	<i>AtMYB11</i> 、 <i>AtMYB12</i> 、 <i>AtMYB111</i> 、 <i>AtPAP1</i>	拟南芥	异源 OE	[13]、[52]~[54]
	<i>NtMYB4a</i> 、 <i>NtMYB59</i>	烟草	同源 OE	[55]、[56]
	<i>CsMYBF1</i>	柑橘	异源 OE、RNAi、Y1H、Dual-LUC	[57]
	<i>LmMYB15</i>	金银花	异源 OE、DAP-seq、Y1H、Dual-LUC	[58]
	<i>AmMYB308</i> 、 <i>AmMYB330</i>	金鱼草	异源 OE	[59]
	<i>SmMYB39</i>	丹参	同源 OE、RNAi	[60]
WRKY	<i>PtWRKY38</i> 、 <i>PtWRKY45</i> 、 <i>PtWRKY60</i> 、 <i>PtWRKY89</i> 、 <i>PtWRKY93</i>	杨树	瞬时 OE	[61]
	<i>TaWRKY14</i>	蒲公英	同源 OE、Y1H	[62]
	<i>NtWRKY33a</i> 、 <i>NtWRKY41a</i>	烟草	同源 OE、CRISPR、ChIP-qPCR、Dual-LUC	[63]、[64]
ERF	<i>SmERF115</i>	胡萝卜	异源 OE、RNAi、EMSA、Y1H、Dual-LUC	[65]
	<i>IbERF4</i>	甘薯	同源 OE、Y1H	[66]
bHLH	<i>TabHLH1</i>	蒲公英	同源 OE、RNAi、EMSA、Y1H、Dual-LUC	[6]
	<i>SmbHLH60</i>	丹参	同源 OE、CRISPR、EMSA、Y1H、Dual-LUC、BiFC	[67]
bZIP	<i>LjbZIP8</i>	忍冬	异源 OE、EMSA、Y1H	[68]
MADS-box	<i>CcAG2</i> 、 <i>CcFUL</i> 、 <i>CcAGL8</i>	咖啡	瞬时 OE、VIGS	[69]

OE: 过表达; RNAi: RNA 干扰; VIGS: 基因沉默; CRISPR: 基因敲除; Y1H: 酵母单杂交; EMSA: 凝胶迁移试验; Dual-LUC: 双荧光素酶报告试验; DAP-seq: DNA 亲和纯化测序; ChIP-qPCR: 染色质免疫沉淀定量 PCR。

MYB 是目前研究最广泛的转录因子家族之一,其生物学功能已在多种模式和非模式植物中得以验证。在胡萝卜中,*DcMYB3* 和 *DcMYB5* 可以与顺式元件 box-L 结合,并激活 *DcPAL1* 和 *DcPAL3* 的转录,导致高水平的绿原酸积累^[51]。拟南芥 *AtMYB11*、*AtMYB12* 和 *AtMYB111* 的过表达增加了转基因烟草和番茄中绿原酸和黄酮醇的生物合成^[13,52-53];而拟南芥 *AtPAP1* 的过表达增加了桔梗毛状根中绿原酸的产生^[54]。在烟草中,过表达 *Nt-*

MYB4a、*NtMYB59* 都可以提高其绿原酸含量^[55-56]。柑橘 *CsMYBF1* 在番茄中的过表达导致羟基肉桂酸化合物的大量积累,而 *CsMYBF1* 的 RNAi 下调了柑橘愈伤组织中羟基肉桂酸和黄酮醇的含量,双荧光素酶分析结果表明,*CsMYBF1* 可以激活番茄和柑橘中苯丙素途径中基因的启动子,且对 *CHS* 基因启动子有不同的激活效应^[57]。在金银花中,*LmMYB15* 可以结合并激活 *4CL*、*MYB3* 和 *MYB4* 的启动子,从而促进绿原酸的生物合成和苯

丙素代谢^[58]。此外,一些负调控因子也被鉴定出,例如编码金鱼草转录因子基因 *AmMYB308* 和 *AmMYB330* 转入烟草中可抑制烟草绿原酸等多酚类物质的合成^[59];在丹参中,*SmMYB39* 作为阻遏因子对酚酸的生物合成产生抑制作用^[60]。

同样地,绿原酸的生物合成也受 WRKY 家族的调控。作为编码杨树 *PtHCT2* 的激活因子基因 *PtWRKYs38*、*PtWRKYs45*、*PtWRKYs60*、*PtWRKYs89* 和 *PtWRKYs93* 在杨树原生质体中瞬时过表达显著增加了 *PtHCT2* 的表达水平^[61]。在蒲公英中,*TaWRKY14* 可以与 *proTaPAL1* 的 W-box 结合,过表达 *TaWRKY14* 增加了绿原酸的积累,同时增强了其对白粉病的抗性^[62]。Wang^[63] 等鉴定出了烟草多酚类物质合成的两个关键 WRKY 转录因子,其中 *NtWRKY41a* 可以直接结合 *NtCCoAOMT*、*NtF6'H1*、*NtHST* 和 *NtGT3* 基因的启动子区域,过表达 *NtWRKY41a* 促进了绿原酸和木质素的生物合成,抑制东莨菪碱和黄酮类化合物的积累;*NtWRKY33a* 可以直接结合 *NtMYB4* 和 *NtHCT* 的启动子区域,从而诱导这两个基因的转录,过表达 *NtWRKY33a* 促进了绿原酸的生物合成,抑制了芦丁、东莨菪碱和总多酚的积累^[64]。

ERF 转录因子是 AP2/ERF 家族中最大的亚族,在丹参中,*SmERF115* 直接与 *SmRAS1* 的启动子结合并激活其表达,过表达 *SmERF115* 增加了酚酸的含量,而沉默 *SmERF115* 降低了酚酸的含量^[65]。在甘薯中,*IbERF4* 可以与绿原酸合成途径中 *4CL* 基因的启动子结合并激活其表达,过表达 *IbERF4* 促进了绿原酸类物质合成^[66]。

bHLH 类转录因子也调控了绿原酸的生物合成。在蒲公英中,*TabHLH1* 可以调控 *TaHQT2*、*Ta4CL*、*TaCHI* 和 *TaF3'H* 这些结构基因的表达,并且直接与 *TaHQT2* 和 *Ta4CL* 启动子区域的 bHLH-binding 作用元件结合,*TabHLH1* 过表达株系的绿原酸和木犀草素含量显著升高,而 *TabHLH1*-RNAi 株系的绿原酸和木犀草素含量显著降低^[6]。在丹参中,一个负调控转录因子基因 *SmbHLH60* 被克隆和鉴定,一方面 *SmbHLH60* 通过抑制 *SmTAT1* 和 *SmDFR* 等靶基因负调控丹参中酚酸和花青素的生物合成,另一方面 *SmbHLH60* 可以和 *SmMYC2* 形成异二聚体,以拮抗的方式调节酚酸和花青素的生物合成^[67]。

此外,在金银花中,*LjbZIP8* 可以特异性结合 *LjPAL2* 的 G-box 元件,而 DNA 甲基化通过介导 *LjbZIP8* 抑制 *PAL* 的表达来负调控绿原酸的合成^[68]。在咖啡中,MADS-box 家族的 3 个成员也参与了绿原酸的生物合成,其中 *CcFUL* 和 *CcAGL8* 是正调控因子,而 *CcAG2* 是负调控因子^[69]。

4 外界因素对绿原酸生物合成的影响

绿原酸的生物合成受多种因素影响,除了基因型、组织部位、发育时期等内部因素外,还受到外界环境因素的诱导,如植物激素、光照、温度、水分、无机盐等(图 2)。

4.1 植物激素对绿原酸生物合成的影响

植物激素是植物信号转导网络中至关重要的内源性信号分子,调控着植物生长发育过程中的许多重要生理活动。水杨酸(SA)和茉莉酸(JA)是与植物先天免疫有关的激素,被广泛用于诱导植物代谢物合成^[70]。这 2 种激素可以通过上调绿原酸生物合成相关基因的表达来提高植物中绿原酸及其衍生物的含量,该结论已经在草莓^[71]、苹果^[72]、葡萄^[73]、甜叶菊^[74]、薄荷^[75] 和甘薯^[76] 等多种植物中得到了验证。

脱落酸(ABA)是响应植物胁迫的主要激素,植物中 ABA 的众多功能是通过 ABF 介导的转录过程实现的^[77-78]。在丹参中,外源 ABA 可以促进毛状根中酚酸的积累^[79],而 *SmSnRK2.6* 通过与 *SmAREB1* 相互作用,上调了 *SmPAL1*、*SmC4H*、*Sm4CL1*、*SmTAT*、*SmHPPR*、*SmRAS*、*SmCHS*、*SmCCR*、*SmCOMT* 和 *SMHPPD* 的表达水平,促进了丹参中酚酸的生物合成^[80];同样的,在甘薯中 ABA 通过诱导 *IbPAL1* 的表达增加了绿原酸的含量^[81]。

赤霉素(GA₃)在诱导和优化次生代谢产物上也发挥着重要的作用,但具有一定的剂量效应。在荞麦中,高浓度的 GA₃ 处理以浓度依赖性的方式逐渐降低芽中的绿原酸含量,而低浓度和中等浓度的 GA₃ 均可刺激绿原酸的积累^[82]。在紫锥菊中,GA₃ 可诱导毛状根中花青素、菊苣酸、咖啡石酸和咖啡酸等酚类物质的产生;在黄花蒿中,GA₃ 可诱导毛状根中青蒿素等萜类物质的产生^[83]。此外,其他激素如油菜素内酯(BR)处理增加了金银花花蕾中绿原酸含量^[84],而 1-甲基环丙烯(1-MCP)处理减缓了苹果中酚类物质的减少^[85]。

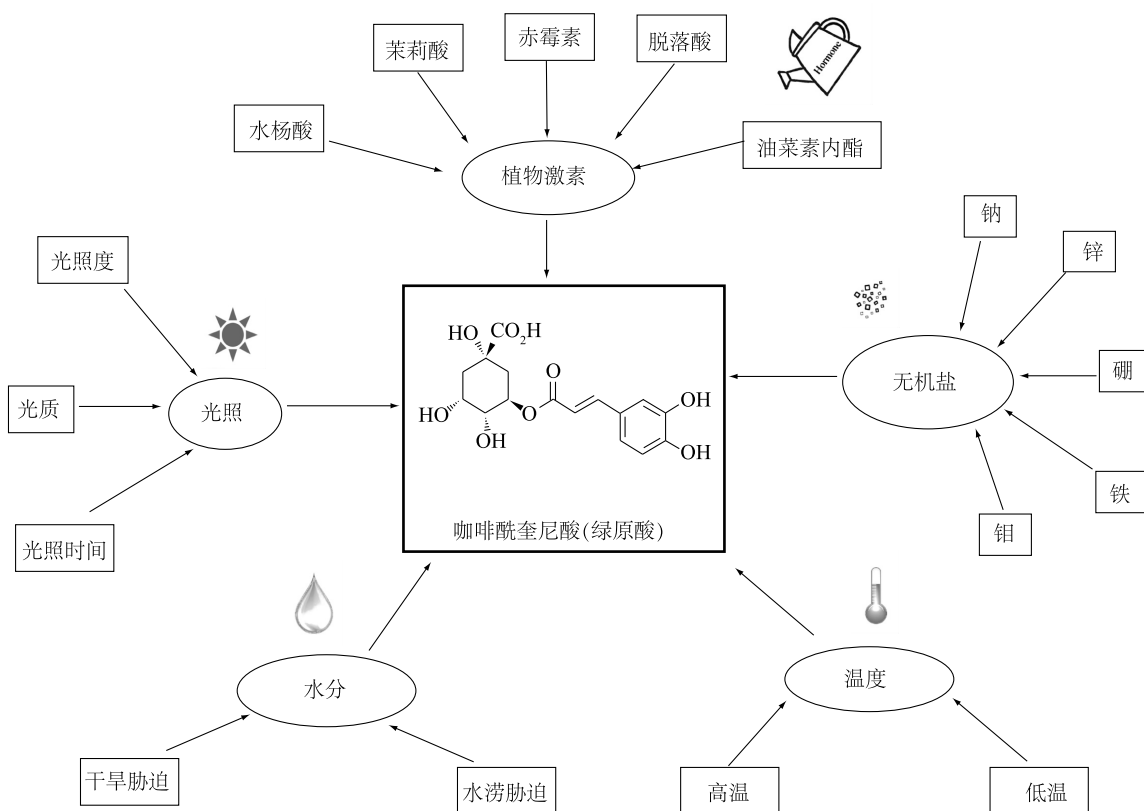


图 2 多种外界因素对绿原酸生物合成的影响

Fig.2 Effects of various external factors on chlorogenic acid biosynthesis

4.2 光照对绿原酸生物合成的影响

不同光照度、光照时间和光质都会对植物中类黄酮、类胡萝卜素和酚类等次生代谢物质造成影响^[86]。研究表明,光照度与绿原酸含量具有一定的相关性^[87]。弱光条件下烟草中多酚、烟碱、类胡萝卜素含量显著减低,增加光照度后,这些次生代谢物质含量也会相应增加^[88]。同样的,Hudina 等^[89]发现套袋处理后,梨果皮中酚类化合物(儿茶素、绿原酸、表儿茶素、对香豆酸、槲皮素 3-*O*-半乳糖苷、槲皮素 3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素 3-*O*-鼠李糖苷)的含量会降低。不同波长的光也会对植物中的次生代谢物质含量产生不同的影响。在青蒿中,红光和蓝光照射促进了青蒿素的积累^[90]。在苦荞中,红光和蓝光照射显著增加了芦丁和绿原酸的含量^[91]。在莴苣中,持续的蓝光照射和升高二氧化碳浓度也可以增加绿原酸含量^[92]。在草莓中,蓝光通过诱导绿原酸合成途径中 *FvHCT* 基因的表达,增加了绿原酸的合成^[93]。此外,紫外线(UV)照射也可以诱

导酚类化合物的生物合成,其诱导作用已在杧果^[94]、蓝莓^[95]、草莓^[96]和葡萄^[97]等植物中报道。例如,在番茄中,采后 UV-C 照射可以诱导编码苯丙烷途径中关键酶的基因表达和酶活性,增加酚类物质和黄酮类物质的积累^[98-99]。

4.3 温度对绿原酸合成的影响

温度也是影响植物绿原酸合成的重要因素。研究表明,低温可以诱导一些次生代谢物的积累,增加植物的抗氧化活性,提高植物的营养价值^[100]。在咖啡中,绿原酸的生物合成受外界环境的调控,并产生温度依赖性^[101]。Vithana 等^[102]发现 5 ℃ 低温下杧果果肉中绿原酸、咖啡酸、杧果苷、没食子酸、香草酸、阿魏酸和类胡萝卜素含量显著高于 13 ℃ 处理。此外,高温胁迫也对酚酸的积累产生一定的影响。牛俊萍等^[103]发现 35 ℃ 高温处理的李子果实的绿原酸和新绿原酸含量显著高于 20 ℃ 处理。在金银花和菊芋中,高温胁迫可以增加绿原酸含量^[104-105]。在玉米中,高温胁迫促进了其幼苗体内绿原酸合成,降低了咖啡酸与阿魏酸含量^[106]。

4.4 水分对绿原酸合成的影响

水分胁迫是威胁全球植物生存和作物生产力的主要环境压力之一。适度的干旱胁迫和短时间干旱胁迫有利于菊花绿原酸和黄酮类物质的合成,提高菊花的药用品质,而过度干旱则抑制菊花次生代谢物的积累^[107]。此外,当水分过多形成水涝胁迫时,烟草中各种酚类次生代谢产物含量也会增加^[108-109]。

4.5 无机盐等对绿原酸合成的影响

大量研究结果表明,可以通过施加盐胁迫增加次生代谢物的积累来提高药用植物产品的质量^[110-111]。Zhao等^[112]发现,盐碱地植物叶片中绿原酸含量高于非盐碱地,水培盐胁迫增加了金银花绿原酸的含量。Yan等^[113]发现,NaCl胁迫通过增加金银花中HQT和PAL基因的转录来刺激叶片绿原酸的合成,增加了金银花的药用品质。辛邵南^[105]研究结果表明,在适当增加盐胁迫处理的时间和盐浓度后,菊芋叶片中绿原酸含量也会随之增加。

此外,植物的生长发育需要一定的营养元素,但具有一定的剂量效应。在杜仲中,叶面喷施1%的锌和1%的硼肥促进了绿原酸的合成^[114];叶面喷施300 mg/L钼酸铵增加了菊花中绿原酸含量^[115],而7.0 mg/L的硼肥虽然显著提高了菊花中次生代谢物的含量,却显著降低其产量^[116];在金银花中,土壤根施铁、硼、钼元素可通过诱导相关基因的表达来增加绿原酸含量^[117-118]。

5 展望

5.1 阐明绿原酸代谢的变化规律

绿原酸的各种衍生物和异构体种类繁多,目前部分植物中绿原酸类物质的组成和含量还未明晰。近年来代谢组学得到快速发展,各种色谱联用技术为绿原酸类物质的鉴定提供了更高效的分析手段,特别是超高效液相色谱-质谱联用(UPLC-MS)因其分离效果好、精密度高、准确性好、分析速度快、仪器成本低等优点,仍然是大批量样本绿原酸定性定量分析的首选方法。中国拥有丰富的绿原酸植物资源,利用代谢组学阐明绿原酸合成通路上各代谢产物的积累规律,揭示苯丙烷代谢各代谢途径的动态平衡模式,仍然具有重要意义。

5.2 揭示植物绿原酸生物合成的调控机制

植物中绿原酸含量是典型的数量性状,受多基

因控制,且其合成途径上大多数酶也都是由多基因家族编码的,单一候选基因很难完全解释植物中绿原酸的合成机制。此外,相关基因的生物化学功能研究滞后,对于一些有遗传转化体系的植物,可以通过基因工程和代谢工程进一步扩大绿原酸的来源途径,提高绿原酸含量。对于一些没有遗传转化体系的植物,大多数研究只能依赖于基因表达分析、异源模式植物转化和体外分子试验,无法对结论进行明确地验证,通过转基因手段获得高绿原酸含量的植物材料还有很长的路要走。

此外,染色质免疫共沉淀(ChIP)、凝胶迁移试验(EMSA)、酵母单杂交试验(Y1H)、双荧光素酶报告试验(Dual-LUC)等试验方法也被广泛用于鉴定转录因子对靶基因的转录激活或抑制。转录因子MYB和WRKY对绿原酸的调控机制研究已经取得一定进展,但其他转录因子特异性结合的启动子核心结构域和功能作用元件尚未得到表征。此外,关于绿原酸代谢的转录后水平和蛋白翻译修饰水平上的调控机理更是知之甚少,利用基因组、转录组、蛋白组、代谢组等多组学技术挖掘绿原酸代谢的分子机制是未来研究的重要方向。

5.3 探索外界因素的作用机理

除了内部遗传因素,外界环境也是影响植物绿原酸积累的重要因素。尽管目前已经发现植物激素、光照、温度、水分和无机盐等对绿原酸生物合成的影响,但这些信号因子的作用途径仍有待进一步探索。掌握各类环境条件对绿原酸合成的影响机制,有利于我们在生产上采取适当的栽培管理措施来提升植物中绿原酸生物合成,开发富含绿原酸的植物产品。

参考文献:

- [1] COMINO C, HEHN A, MOGLIA A, et al. The isolation and mapping of a novel hydroxycinnamoyltransferase in the globe artichoke chlorogenic acid pathway[J]. BMC Plant Biology, 2009, 9(1):30.
- [2] NIGGEWEG R, MICHAEL A J, MARTIN C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid[J]. Nature Biotechnology, 2004, 22(6):746-754.
- [3] SONNANTE G, DAMORE R, BLANCO E, et al. Novel hydroxycinnamoyl-coenzyme A quinate transferase genes from artichoke are involved in the synthesis of chlorogenic acid[J]. Plant Physiology, 2010, 153(3):1224-1238.
- [4] LI Y Q, KONG D X, BAI M, et al. Correlation of the temporal and spatial expression patterns of HQT with the biosynthesis and

- accumulation of chlorogenic acid in *Lonicera japonica* flowers[J]. Horticulture Research, 2019, 6(1): 934-947.
- [5] LIU Q, YAO L X, XU Y C, et al. *In vitro* evaluation of hydroxycinnamoyl CoA: quinate hydroxycinnamoyl transferase expression and regulation in *Taraxacum antungense* in relation to 5-caffeoylquinic acid production[J]. Phytochemistry, 2019, 162: 148-156.
- [6] LIU Q, LI L, CHENG H T, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor TabHLH1 increases chlorogenic acid and luteolin biosynthesis in *Taraxacum antungense* Kitag[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1): 14.
- [7] ANDREOTTI C, RAVAGLIA D, RAGAINI A, et al. Phenolic compounds in peach (*Prunus persica*) cultivars at harvest and during fruit maturation[J]. Annals of Applied Biology, 2008, 153(1): 11-23.
- [8] RODRIGUEZ-MATEOS A, CIFUENTES-GOMEZ T, TABATABAEE S, et al. Procyanidin, anthocyanin, and chlorogenic acid contents of highbush and lowbush blueberries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(23): 5772-5778.
- [9] HE J G, CHENG Y D, GUAN J F, et al. Changes of chlorogenic acid content and its synthesis-associated genes expression in Xuehuan pear fruit during development[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2017, 16(2): 471-477.
- [10] CHEN X D, CAI W J, XIA J, et al. Metabolomic and transcriptomic analyses reveal that blue light promotes chlorogenic acid synthesis in strawberry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(44): 12485-12492.
- [11] LIAO L, ZHANG W, ZHANG B, et al. Evaluation of chlorogenic acid accumulation in cultivated and wild apples[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2021, 104: 104156.
- [12] JAISWAL R, MULLER H, MULLER A, et al. Identification and characterization of chlorogenic acids, chlorogenic acid glycosides and flavonoids from *Lonicera henryi* L. (Caprifoliaceae) leaves by LC-MSn[J]. Phytochemistry, 2014, 108: 252-263.
- [13] PANDEY A, MISRA P, BHAMBHANI S, et al. Expression of *Arabidopsis* MYB transcription factor, *AtMYB111*, in tobacco requires light to modulate flavonol content[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 5018.
- [14] SANTANA-GALVEZ J, CISNEROS-ZEVALLOS L, JACOBO-VELAZQUEZ D A. Chlorogenic acid: Recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome[J]. Molecules, 2017, 22(3): 2-21.
- [15] NAVEED M, HEJAZI V, ABBAS M, et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 97: 67-74.
- [16] HAMMERSCHMIDT R. Chlorogenic acid: A versatile defense compound[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2014, 88: 3-4.
- [17] JIAO W X, LI X X, WANG X M, et al. Chlorogenic acid induces resistance against *Penicillium expansum* in peach fruit by activating the salicylic acid signaling pathway[J]. Food Chemistry, 2018, 260: 274-282.
- [18] MARTINEZ G, REGENTE M, JACOBI S, et al. Chlorogenic acid is a fungicide active against phytopathogenic fungi[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2017, 140: 30-35.
- [19] JAISWAL R, KUHNERT N. Identification and characterization of two new derivatives of chlorogenic acids in Arnica (*Arnica montana* L.) flowers by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(8): 4033-4039.
- [20] HOFFMANN L, MAURY S, MARTZ F, et al. Purification, cloning, and properties of an acyltransferase controlling shikimate and quinate ester intermediates in phenylpropanoid metabolism[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(1): 95-103.
- [21] HOFFMANN L, BESSEAU S, GEFFROY P, et al. Silencing of hydroxycinnamoyl-coenzyme A shikimate/quinic acid hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis[J]. Plant Cell, 2004, 16(6): 1446-1465.
- [22] PAYYAVULA R S, SHAKYA R, SENGODA V G, et al. Synthesis and regulation of chlorogenic acid in potato: Rerouting phenylpropanoid flux in HQT-silenced lines[J]. Plant Biotechnology Journal, 2015, 13(4): 551-564.
- [23] SU Z W, JIA H R, SUN M, et al. Integrative analysis of the metabolome and transcriptome reveals the molecular mechanism of chlorogenic acid synthesis in peach fruit[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 961626.
- [24] ZHAO L Q, SHAN C M, SHAN T Y, et al. Probing the transcriptome of *Boehmeria nivea* reveals candidate genes associated with the biosynthesis of chlorogenic acid[J]. Gene, 2022, 833: 146579.
- [25] WEN H, WANG W Q, JIANG X, et al. Transcriptome analysis to identify candidate genes related to chlorogenic acid biosynthesis during development of Korla fragrant pear in Xinjiang[J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(4): 854-864.
- [26] HOWLES P A, SEWALT V J H, PAIVA N L, et al. Overexpression of *L*-phenylalanine ammonia-lyase in transgenic tobacco plants reveals control points for flux into phenylpropanoid biosynthesis[J]. Plant Physiology, 1996, 112(4): 1617-1624.
- [27] LEPELLEY M, MAHESH V, MCCARTHY J, et al. Characterization, high-resolution mapping and differential expression of three homologous *PAL* genes in *Coffea canephora* Pierre (Rubiaceae)[J]. Planta, 2012, 236(1): 313-326.
- [28] YU Y, WANG Y J, YU Y, et al. Overexpression of *IbPAL1* promotes chlorogenic acid biosynthesis in sweetpotato[J]. Crop Journal, 2021, 9(1): 204-215.
- [29] YUAN Y, WANG Z Y, JIANG C, et al. Exploiting genes and functional diversity of chlorogenic acid and luteolin biosyntheses in *Lonicera japonica* and their substitutes[J]. Gene, 2014, 534(2): 408-416.
- [30] QI X W, YU X, XU D H, et al. Identification and analysis of *CYP450* genes from transcriptome of *Lonicera japonica* and expression analysis of chlorogenic acid biosynthesis related *CYP450s*[J].

- Peerj, 2017, 5:e3781.
- [31] YAN J, SU Z W, GUO S L, et al. Chlorogenic acid accumulation and related gene expression in peach fruit[J]. Horticulture Environment and Biotechnology, 2022, 63(3):403-411.
- [32] PU G B, WANG P, ZHOU B Q, et al. Cloning and characterization of *Lonicera japonica* p-coumaroyl ester 3-hydroxylase which is involved in the biosynthesis of chlorogenic acid[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2013, 77(7):1403-1409.
- [33] 蒋向辉. 金银花绿原酸合成途径关键酶基因克隆与功能分析[D]. 长沙:湖南大学, 2013.
- [34] MOGLIA A, ACQUADRO A, ELJOUNAIDI K, et al. Genome-wide identification of BAHD acyltransferases and *in vivo* characterization of HQT-like enzymes involved in caffeoylquinic acid synthesis in globe artichoke[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7(30):1424.
- [35] ZHANG J R, WU M L, LI W D, et al. Regulation of chlorogenic acid biosynthesis by hydroxycinnamoyl CoA quinate hydroxycinnamoyl transferase in *Lonicera japonica*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 121:74-79.
- [36] VILLEGAS R J A, KOJIMA M. Purification and characterization of hydroxycinnamoyl D-glucose quinate hydroxycinnamoyl transferase in the root of sweet potato, *Ipomoea batatas* Lam[J]. Journal of Biological Chemistry, 1986, 261(19):8729-8733.
- [37] ABDULRAZZAK N, POLLET B, EHLTING J, et al. A coumaroyl-ester-3-hydroxylase insertion mutant reveals the existence of nonredundant meta-hydroxylation pathways and essential roles for phenolic precursors in cell expansion and plant growth[J]. Plant Physiology, 2006, 141(4):1708.
- [38] REDDY M S S, CHEN F, SHADLE G, et al. Targeted down-regulation of cytochrome P450 enzymes for forage quality improvement in alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(46):16573-16578.
- [39] MOTTIAR Y, VANHOLME R, BOERJAN W, et al. Designer lignins; harnessing the plasticity of lignification[J]. Current Opinion In Biotechnology, 2016, 37:190-200.
- [40] ALBERSTEIN M, EISENSTEIN M, ABELIOVICH H. Removing allosteric feedback inhibition of tomato 4-coumarate:CoA ligase by directed evolution[J]. Plant Journal, 2012, 69(1):57-69.
- [41] GUI J S, SHEN J H, LI L G. Functional characterization of evolutionarily divergent 4-coumarate:coenzyme A ligases in rice[J]. Plant Physiology, 2011, 157(2):574-586.
- [42] LI Y, CHEN M, WANG S L, et al. *AtMYB11* regulates caffeoylquinic acid and flavonol synthesis in tomato and tobacco[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2015, 122(2):309-319.
- [43] MOGLIA A, COMINO C, PORTIS E, et al. Isolation and mapping of a *C3'H* gene (*CYP98A49*) from globe artichoke, and its expression upon UV-C stress[J]. Plant Cell Reports, 2009, 28(6):963-974.
- [44] FU R, ZHANG P Y, JIN G, et al. Versatility in acyltransferase activity completes chicoric acid biosynthesis in purple coneflower[J]. Nature Communications, 2021, 12(1):1563.
- [45] MUDAU S P, STEENKAMP P A, PIATER L A, et al. Metabolomics-guided investigations of unintended effects of the expression of the hydroxycinnamoyl quinate hydroxycinnamoyltransferase (*hqt1*) gene from *Cynara cardunculus* var. scolymus in *Nicotiana tabacum* cell cultures[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 127:287-298.
- [46] GALLEGO-GIRALDO L, ESCAMILLA-TREVINO L, JACKSON L A, et al. Salicylic acid mediates the reduced growth of lignin down-regulated plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(51):20814-20819.
- [47] MITA S, NAGAI Y, ASAI T. Isolation of cDNA clones corresponding to genes differentially expressed in pericarp of mume (*Prunus mume*) in response to ripening, ethylene and wounding signals[J]. Physiologia Plantarum, 2006, 128(3):531-545.
- [48] SHI R, SUN Y H, LI Q Z, et al. Towards a systems approach for lignin biosynthesis in *Populus trichocarpa*: Transcript abundance and specificity of the monolignol biosynthetic genes[J]. Plant and Cell Physiology, 2010, 51(1):144-163.
- [49] VARBANNOVA M, PORTER K, LU F, et al. Molecular and biochemical basis for stress-induced accumulation of free and bound p-Coumaraldehyde in cucumber[J]. Plant Physiology, 2011, 157(3):1056-1066.
- [50] SHI Y N, LI B J, SU G Q, et al. Transcriptional regulation of fleshy fruit texture[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2022, 64(9):1649-1672.
- [51] WAKO T, KIMURA S, CHIKAGAWA Y, et al. Characterization of MYB proteins acting as transcriptional regulatory factors for carot phenylalanine ammonia-lyase gene (*DcPAL3*) [J]. Plant Biotechnology, 2010, 27(2):131-139.
- [52] LUO J, BUTELLI E, HILL L, et al. *AtMYB12* regulates caffeoyl quinic acid and flavonol synthesis in tomato; expression in fruit results in very high levels of both types of polyphenol[J]. Plant Journal, 2008, 56(2):316-326.
- [53] 李 洋. 转录因子 *AtMYB11* 和 *AtMYB12* 在茄科作物上调控多酚类物质合成的研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2016.
- [54] TUAN P A, KWON D Y, LEE S, et al. Enhancement of chlorogenic acid production in hairy roots of platycodon grandiflorum by over-expression of an *Arabidopsis thaliana* transcription factor *AtPAP1*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(8):14743-14752.
- [55] 王 中, 赵利杰, 刘萍萍, 等. 烟草 *NtMYB59* 基因克隆及过表达对绿原酸含量的影响[J]. 烟草科技, 2021, 54(5):1-7.
- [56] 杨 琴, 罗 倩, 孙光军, 等. *NtMYB4a* 基因对烟草多酚类物质合成的影响[J]. 分子植物育种, 2021, 19(8):2588-2595.
- [57] LIU C Y, LONG J M, ZHU K J, et al. Characterization of a citrus R2R3-MYB transcription factor that regulates the flavonol and hydroxycinnamic acid biosynthesis[J]. Scientific Reports, 2016, 6

- (1):25352.
- [58] TANG N, CAO Z Y, YANG C, et al. A R2R3-MYB transcriptional activator *LmMYB15* regulates chlorogenic acid biosynthesis and phenylpropanoid metabolism in *Lonicera macranthoides* [J]. Plant Science, 2021, 308:110924.
- [59] STRACKE R, ISHIHARA H, BARSCH G H A, et al. Differential regulation of closely related R2R3-MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the arabidopsis thaliana seedling [J]. Plant Journal, 2007, 50(4):660-677.
- [60] ZHANG S C, MA P D, YANG D F, et al. Cloning and characterization of a putative R2R3 MYB transcriptional repressor of the rosmarinic acid biosynthetic pathway from *Salvia miltiorrhiza* [J]. PLoS One, 2013, 8(9):e73259.
- [61] ZHANG J, YANG Y, ZHENG K, et al. Genome-wide association studies and expression-based quantitative trait loci analyses reveal roles of HCT2 in caffeoylquinic acid biosynthesis and its regulation by defense-responsive transcription factors in *Populus* [J]. New Phytologist, 2018, 220(2):502-516.
- [62] LIU Q, ZHOU W, RUAN Q Y, et al. Overexpression of *TaWRKY14* transcription factor enhances accumulation of chlorogenic acid in *Taraxacum antungense* Kitag and increases its resistance to powdery mildew [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2020, 143(3):665-679.
- [63] WANG Z, WANG S B, LIU P P, et al. Molecular cloning and functional characterization of NtWRKY41a in the biosynthesis of phenylpropanoids in *Nicotiana tabacum* [J]. Plant Science, 2022, 315:111154.
- [64] WANG Z, MA L X, LIU P P, et al. Transcription factor NtWRKY33a modulates the biosynthesis of polyphenols by targeting *NtMYB4* and *NtHCT* genes in tobacco [J]. Plant Science, 2023, 326:111522.
- [65] SUN M H, SHI M, WANG Y, et al. The biosynthesis of phenolic acids is positively regulated by the JA-responsive transcription factor *ERF115* in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70(1):243-254.
- [66] 禹 阳,边小峰,贾赵东,等. 甘薯 ERF 转录因子 IbERF4 在促进植物绿原酸类物质合成中的用途:CN114395566B [P]. 2022-05-24.
- [67] LIN S C, WANG Y, SHI M, et al. SmbHLH60 and SmMYC2 antagonistically regulate phenolic acids and anthocyanins biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Journal of Advanced Research, 2022, 42:205-219.
- [68] ZHA L P, LIU S, LIU J, et al. DNA methylation influences chlorogenic acid biosynthesis in *Lonicera japonica* by mediating *LjbZIP8* to regulate phenylalanine ammonia-lyase 2 Expression [J]. Frontiers In Plant Science, 2017, 8:1178.
- [69] NTINI C. 鉴定咖啡中决定咖啡因和绿原酸积累的 *MADS-Box* 基因 [D]. 武汉:中国科学院大学(中国科学院武汉植物园), 2021.
- [70] DING P T, DING Y L. Stories of salicylic acid: A plant defense hormone [J]. Trends In Plant Science, 2020, 25(6):549-565.
- [71] MORENO F D, MONAGAS M, BLANCH G, et al. Enhancement of anthocyanins and selected aroma compounds in strawberry fruits through methyl jasmonate vapor treatment [J]. European Food Research and Technology, 2010, 230(6):989-999.
- [72] SHAFIQ M, SINGH Z, KHAN A S. Pre-harvest spray application of methyl jasmonate improves red blush and flavonoid content in 'Cripps Pink' apple [J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 2011, 86(4):422-430.
- [73] RUIZ-GARCIA Y, ROMERO-CASCALES I, GIL-MUNOZ R, et al. Improving grape phenolic content and wine chromatic characteristics through the use of two different elicitors: methyl jasmonate versus benzothiadiazole [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(5):1283-1290.
- [74] 邹 凯,刘泽波,陈继光,等. 甜叶菊毛状根的诱导培养及茉莉酸甲酯对其绿原酸类物质积累的影响 [J]. 食品科学, 2017, 38(12):89-95.
- [75] YOUSEFIAN S, LOHRASEBI T, FARHADPOUR M, et al. Effect of methyl jasmonate on phenolic acids accumulation and the expression profile of their biosynthesis-related genes in *Mentha spicata* hairy root cultures [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2020, 142(2):285-297.
- [76] YU Y, ZHANG Q, LIU S, et al. Effects of exogenous phytohormones on chlorogenic acid accumulation and pathway-associated gene expressions in sweetpotato stem tips [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 164:21-26.
- [77] SUN M, SHI M, WANG Y, et al. The biosynthesis of phenolic acids is positively regulated by the JA-responsive transcription factor *ERF115* in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70(1):243-254.
- [78] CHEN K, LI G J, BRESSAN R A, et al. Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2020, 62(1):25-54.
- [79] LIANG Z S, MA Y N, XU T, et al. Effects of abscisic acid, gibberellin, ethylene and their interactions on production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* Bunge hairy roots [J]. PLoS One, 2013, 8(9):e72806.
- [80] JIA Y Y, BAI Z Q, PEI T L, et al. The protein kinase *SmSnRK2.6* positively regulates phenolic acid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* by interacting with *SmAREB1* [J]. Frontiers In Plant Science, 2017, 8:1384.
- [81] YU Y, ZHANG Q, LIU S, et al. Effects of exogenous phytohormones on chlorogenic acid accumulation and pathway-associated gene expressions in sweetpotato stem tips [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 164:21-26.
- [82] PARK C H, YEO H J, PARK Y J, et al. Influence of indole-3-acetic acid and gibberellic acid on phenylpropanoid accumulation in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) sprouts [J]. Molecules, 2017, 22(3):374.
- [83] ABBASI B H, STILES A R, SAXENA P K, et al. Gibberellic

- acid increases secondary metabolite production in *Echinacea purpurea* hairy roots [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 168(7):2057-2066.
- [84] 万雪芹,叶燕萍,梅利民,等. GA3 和 BR 对金银花花期及绿原酸含量的影响[J]. *西南农业学报*, 2009, 22(1):156-158.
- [85] 李建新,张晓宇,艾志录,等. 1-甲基环丙烯对花牛苹果中苹果多酚和绿原酸含量的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2017, 51(6):797-800.
- [86] TINYANE P P, SIVAKUMAR D, SOUNDY P. Influence of photo-selective netting on fruit quality parameters and bioactive compounds in selected tomato cultivars [J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, 161:340-349.
- [87] GRACE S C, LOGAN B A, ADAMS W W. Seasonal differences in foliar content of chlorogenic acid, a phenylpropanoid antioxidant, in *Mahonia repens* [J]. *Plant Cell and Environment*, 1998, 21(5):513-521.
- [88] 郑明,周冀衡,黄勇. 光照强度对烤烟烟苗生长和代谢产物含量的影响[J]. *作物研究*, 2009, 23(3):181-183.
- [89] HUDINA M, STAMPAR F, ORAZEM P, et al. Phenolic compounds profile, carbohydrates and external fruit quality of the 'Concorde' pear (*Pyrus communis* L.) after bagging [J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2012, 92(1):67-75.
- [90] ZHANG D, SUN W, SHI Y H, et al. Red and blue light promote the accumulation of artemisinin in *Artemisia annua* L. [J]. *Molecules*, 2018, 23(6):1329.
- [91] SEO J M, ARASU M V, KIM Y B, et al. Phenylalanine and LED lights enhance phenolic compound production in Tartary buckwheat sprouts [J]. *Food Chemistry*, 2015, 177:204-213.
- [92] SHIMOMURA M, YOSHIDA H, FUJIUCHI N, et al. Continuous blue lighting and elevated carbon dioxide concentration rapidly increase chlorogenic acid content in young lettuce plants [J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 272:109550.
- [93] CHEN X, CAI W, XIA J, et al. Metabolomic and transcriptomic analyses reveal that blue light promotes chlorogenic acid synthesis in strawberry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(44):12485-12492.
- [94] GONZALEZ-AGUILAR G A, ZAVALA-GATICA R, TIZNADO-HERNANDEZ M E. Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2007, 45(1):108-116.
- [95] WANG C Y, CHEN C T, WANG S Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C [J]. *Food Chemistry*, 2009, 117(3):426-431.
- [96] SEVERO J, DE OLIVEIRA I R, TIECHER A, et al. Postharvest UV-C treatment increases bioactive, ester volatile compounds and a putative allergenic protein in strawberry [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64(2):685-692.
- [97] PINTO E P, PERIN E C, SCHOTT I B, et al. The effect of post-harvest application of UV-C radiation on the phenolic compounds of conventional and organic grapes (*Vitis labrusca* cv. 'Concord') [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 120:84-91.
- [98] BRAVO S, GARCIA-ALONSO J, MARTIN-POZUELO G, et al. The influence of post-harvest UV-C hormesis on lycopene, beta-carotene, and phenolic content and antioxidant activity of breaker tomatoes [J]. *Food Research International*, 2012, 49(1):296-302.
- [99] LIU Z B, CHEN J G, YIN Z P, et al. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation increase content and yield of chlorogenic acid and its derivatives in *Gardenia jasminoides* cell suspension cultures [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2018, 134(1):79-93.
- [100] PADDA M S, PICHA D H. Antioxidant activity and phenolic composition in 'Beauregard' sweetpotato are affected by root size and leaf age [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2007, 132(4):447-451.
- [101] JOET T, SALMONA J, LAFFARGUE A, et al. Use of the growing environment as a source of variation to identify the quantitative trait transcripts and modules of co-expressed genes that determine chlorogenic acid accumulation [J]. *Plant Cell and Environment*, 2010, 33(7):1220-1233.
- [102] VITHANA M D K, SINGH Z, JOHNSON S K. Regulation of the levels of health promoting compounds: luteol, mangiferin and phenolic acids in the pulp and peel of mango fruit: a review [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(8):3740-3751.
- [103] 牛俊萍. 高温对'红美丽'李果实花色苷代谢的影响[D]. 咸阳:西北农林科技大学, 2015.
- [104] 张萍,蒲高斌. 气候因子对金银花绿原酸含量影响的研究 [J]. *山东农业科学*, 2015, 47(9):77-79.
- [105] 辛郁南. 滩涂适生菊芋绿原酸合成途径相关基因响应高温与盐胁迫的机理分析[D]. 南京:南京农业大学, 2017.
- [106] 任园宇,魏东伟,孙武勇,等. HPLC-MS 法测定高温胁迫前后玉米幼苗 6 种酚酸类化合物含量 [J]. *化学研究与应用*, 2020, 32(5):795-802.
- [107] 杨富富,郭巧生,张守栋,等. 水分胁迫对药用白菊花抗干旱生理及药材内在品质的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(4):486-487.
- [108] 高源远,于腾辉,吴建国,等. 水涝胁迫对烟草理化特性和几种次生代谢产物的影响 [J]. *南昌大学学报(理科版)*, 2018, 42(5):445-451.
- [109] 吴栋,于腾辉,李享,等. 中性解吸-电喷雾萃取电离质谱直接分析水涝胁迫下烟草的代谢产物 [J]. *分析化学*, 2020, 48(1):121-128.
- [110] KLEINWACHTER M, SELMAR D. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications [J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(1):121-131.
- [111] SHAO Y H, GAO J L, WU X W, et al. Effect of salt treatment on growth, isoenzymes and metabolites of *andropogon paniculata* (Burm. f.) Nees [J]. *Acta Physiologiae Plant*, 2015, 37:35.
- [112] ZHAO G M, LI S H, SUN X, et al. The role of silicon in physiol-

- ogy of the medicinal plant (*Lonicera japonica* L.) under salt stress [J].Scientific Reports, 2015, 5:12696.
- [113] YAN K, ZHAO S J, BIAN L X, et al. Saline stress enhanced accumulation of leaf phenolics in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) without induction of oxidative stress[J].Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 112:326-334.
- [114] 曹瑞致. 不同生长调节剂和微量元素处理对杜仲生长及次生代谢物含量的影响[D]. 咸阳:西北农林科技大学, 2018.
- [115] 李 丽. 氮钼镁营养和有机酸对药用菊花生长发育及品质影响研究[D]. 南京:南京农业大学, 2016.
- [116] 徐 扬,石子为,刘 引,等. 施用硼肥对菊花生长及品质的影响[J].中国现代中药, 2020, 22(2):255-259,270.
- [117] 蒋向辉,戴贵东,王 翔. 微量元素对金银花中绿原酸形成与积累的影响[J].植物生理学报, 2017, 53(6):1015-1022.
- [118] 蒋向辉,余朝文,苑 静,等. 微量元素对金银花绿原酸合成关键酶基因 *LjHCT* 和 *LjC3H1* 表达的影响研究[J].植物科学学报, 2017, 35(2):260-266.

(责任编辑:成纾寒)