

# 葡萄中糖基化花色苷研究进展

朱 磊<sup>1</sup>, 李丹丹<sup>1</sup>, 王鹤霖<sup>1</sup>, 张雅丽<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup>黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319; <sup>2</sup>中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘 要:** 葡萄果实与葡萄酒的颜色由其所含花色苷的种类和含量决定, 而花色苷是由花色素经过糖基化修饰转变而成, 所以糖基化修饰在葡萄果实花色苷合成途径中起着重要作用。葡萄果实中的糖基化花色苷主要包括花色素的 3-O-葡萄糖基和 3,5-O-双葡萄糖基, 即花色素单糖苷和花色素双糖苷, 糖基化花色苷的组成是决定红葡萄酒品质的关键因素之一。对糖基化花色苷在葡萄果实中的组成及其对葡萄酒颜色和稳定性的影响进行了简要介绍, 重点对花色素单糖苷和花色素双糖苷合成的关键酶基因以及转录因子进行了综述, 以期为葡萄果实糖基化花色苷合成的调控机理的全面揭示和优质红色酿酒葡萄品种的选育提供信息。

**关键词:** 葡萄; 花色苷; 糖基化; 关键酶基因; 转录因子

**中图分类号:** S 663.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2017) 09-1693-11

## Advances in Glycosylated Anthocyanins in Grapes

ZHU Lei<sup>1</sup>, LI Dandan<sup>1</sup>, WANG Helin<sup>1</sup>, and ZHANG Yali<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; <sup>2</sup>College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** The colors of grapes and wines depend on their contents and types of anthocyanin compounds. Anthocyanins were transformed from anthocyanidins through glycosylation. So glycosylation plays an important role in the synthesis pathway of grape anthocyanin compounds. In grape berries, glycosylated anthocyanins include 3-O-glucoside and 3,5-O-diglucosides of anthocyanidins, i.e. monoglucoside anthocyanins and diglucoside anthocyanins. The compositions of glycosylated anthocyanins are one of the critical factors which determine red wine quality. In this review, the compositions of glycosylated anthocyanins in grape berries and the effects of glycosylated anthocyanins on the colours and stabilities of wines were briefly introduced. And the key enzyme genes and transcription factors of the biosynthesis of monoglucoside anthocyanins and diglucoside anthocyanins in grapes were mainly reviewed. The purpose of this review was providing references for the comprehensive revelation of biosynthetic regulation of glycosylated anthocyanins and the breeding of red wine grape cultivars with high quality.

**Keywords:** grape; anthocyanin; glycosylation; key enzyme gene; transcription factor

**收稿日期:** 2017-05-09; **修回日期:** 2017-08-31

**基金项目:** 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31401828); 黑龙江省自然科学基金青年科学基金项目 (QC2017024); 大庆市指导性科技计划项目 (zd-2016-108); 黑龙江八一农垦大学引进人才科研启动计划项目 (XYB2013-16); 黑龙江省教育厅科研项目 (12541579)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangyali@cau.edu.cn)

葡萄 (*Vitis*) 和葡萄酒的颜色是其重要的品质特征, 主要由果实中花色苷的组成和含量决定。葡萄花色苷主要包括花翠素 (delphinidin, Dp)、花青素 (cyanidin, Cy)、3'-甲基花翠素 (petunidin, Pt)、甲基花青素 (peonidin, Pn) 和二甲花翠素 (malvidin, Mv) 的单糖苷和双糖苷以及它们的酰化形式 (Mazzuca et al., 2005; Shiraishi et al., 2007; Liang et al., 2008), 少数葡萄种/品种 (如圆叶葡萄等) 还含有花葵素 (pelargonidin, Pg) 的糖苷 (Wang et al., 2003; Tian et al., 2005; He et al., 2010; Sandhu & Gu, 2010; Zhao et al., 2010), 因此这一新型核酸酶将推动原生质体的转化和利用, 为快速获得无转基因痕迹的突变后代提供了可能。无转基因痕迹的再生后代的成功获得将大大促进基因编辑技术在农作物性状改良中的应用。

糖基化对葡萄花色苷的合成起着重要作用, 糖基转移酶 (GT) 将化学性质活跃的花色素转化成花色苷 (He et al., 2010), 花色素先后经过关键酶二磷酸尿苷葡萄糖-3-O-类黄酮葡萄糖基转移酶 (UDP-glucose 3-O-flavonoid glucosyltransferase, 3GT) 和二磷酸尿苷葡萄糖-5-O-类黄酮葡萄糖基转移酶 (UDP-glucose 5-O-flavonoid glucosyltransferase, 5GT) 的作用, 形成了花色素的 3-O-葡萄糖苷和 3,5-O-双葡萄糖苷, 这两个酶分属 UDP-葡萄糖基转移酶 (GT1) 家族中 3GT 和 5GT 亚家族 (王军和于淼, 2010; Breton et al., 2012)。而葡萄果实中糖基化花色苷的组成是决定葡萄酒品质和陈酿潜力的重要因素之一。

## 1 葡萄中糖基化花色苷的组成

葡萄果实中, 花色素可在其分子骨架的 3-位和 5-位上结合葡萄糖基, 只在 3-位上结合一个葡萄糖基的花色苷为 3-O-葡萄糖基花色苷, 即花色素单糖苷, 在 3-位和 5-位上分别结合一个葡萄糖基的花色苷为 3,5-O-双葡萄糖基花色苷, 即花色素双糖苷。葡萄按遗传背景主要分为欧亚种 (*V. vinifera*)、北美种群、东亚种群和圆叶葡萄 (*V. rotundifolia*), 这两种糖基化花色苷的组成在不同的葡萄种/种群中差异非常大。在欧亚种葡萄中只含有花色素单糖苷 (Liang et al., 2008; Revilla et al., 2010), 而圆叶葡萄中所有的花色苷都是花色素双糖苷 (Ballinger et al., 1973; Huang et al., 2009; Sandhu & Gu, 2010; You et al., 2012)。但是近年来随着检测技术的不断发展, 在一些欧亚种葡萄中也鉴定到了痕量的花色素双糖苷 (Heier et al., 2002; Vidal et al., 2004; Picariello et al., 2012; Li et al., 2013), 例如, Yang 等 (2014) 在欧亚种葡萄 'Eununi'、'Sidezites Proimo'、'Ajimi'、'Zalovitico'、'Prokupac' 和 'Black Kishmish' 中检测到了花色素双糖苷的存在。Xing 等 (2015) 首次在中国多个酿酒葡萄产区 (包括云南、四川、新疆和甘肃) 的欧亚种葡萄 '赤霞珠' 中检测到了花翠素、花青素、甲基花青素和二甲花翠素的花色素双糖苷。北美种群和东亚种群的葡萄既含有花色素单糖苷, 又含有花色素双糖苷, 在北美种群的美洲葡萄 (*V. labrusca*)、沙地葡萄 (*V. rupestris*) 和河岸葡萄 (*V. riparia*) 等野生种中, 花色素双糖苷占总花色苷的 30%~60% (Mazza, 1995; Liang et al., 2011), 而在东亚种群如山葡萄 (*V. amurensis*)、毛葡萄 (*V. quinquangularis*) 和刺葡萄 (*V. dividii*) 等野生种中, 花色素双糖苷所占比例更大, 占总花色苷的 50%~90% (Mazza, 1995; Zhao et al., 2010; Liang et al., 2011; de la Cruz et al., 2012; Zhu et al., 2012b)。但是并非所有野生种葡萄都含有大量的花色素双糖苷, 例如, 在甜冬葡萄 (*V. cinerea*) 的一些品种中就不曾检测到花色素双糖苷 (Anderson et al., 1970; de la Cruz et al., 2012)。

为了提高欧亚种葡萄栽培品种抵抗根瘤蚜和其他病害的能力, 育种专家利用欧亚种和北美种群的野生种 (如美洲葡萄和河岸葡萄) 杂交, 培育了很多品种, 由于不同的遗传背景, 花色素双糖苷

在欧美杂交品种的总花色苷中所占的比例从 0 到 60%不等 (Robinson et al., 1966; Flamini & Tomasi, 2000; de Rosso et al., 2012; Balik et al., 2013; Li et al., 2013)。例如, 在 ‘Chelois’ (Seibel 10878) 中没有检测到花色素双糖苷, 而在 ‘Rosette’ (Seibel 1000) 中花色素双糖苷占总花色苷含量的一半以上 (Robinson et al., 1966)。最近关于 10 个欧美杂交品种的研究表明, 有 4 个品种 (‘XIV 26-56’、‘Laurot’、‘Merlan’ 和 ‘Nativa’) 都不含有花色素双糖苷 (Balik et al., 2013)。由于东亚种群中的山葡萄是抗寒性最强的葡萄种, 为了提高欧亚种葡萄的抗寒性, 包括中国在内的育种专家也培育出很多山欧杂交品种, 山欧杂交品种糖基化花色苷的组成差异也很大。例如, ‘左红一’ 的花色素双糖苷占总花色苷含量的 83%, 而 ‘哈桑’ 中仅有 10% 的花色素双糖苷 (Zhu et al., 2012b)。

## 2 糖基化花色苷对葡萄酒颜色及稳定性的影响

葡萄果实中的花色苷是葡萄酒色泽的主要来源, 它们不但以单体形式存在于葡萄酒中, 而且可以与酒中的其他小分子化合物发生反应, 以聚合体的形式存在于葡萄酒中 (Li et al., 2011; Zhu et al., 2012a)。由于分子结构的差异, 花色素单糖苷和花色素双糖苷在葡萄酒中的表现也存在差异。花色素双糖苷中 5 - O - 葡萄糖基的结构对于其在葡萄酒中的颜色和稳定性具有双重特性 (Bishop & Nagel, 1984; Sims & Morris, 1985; Mazza & Brouillard, 1987; Garcia-Viguera & Bridle, 1999), 在新酒中, 花色素双糖苷在热和光下的稳定性好于花色素单糖苷 (Robinson et al., 1966; Vanburen et al., 1968; Kim et al., 2010), 但是花色素双糖苷在葡萄酒的成熟和陈酿过程中是非常不稳定的 (Sims & Morris, 1985)。这种双重特性在圆叶葡萄酒中表现突出, 与欧亚种 ‘赤霞珠’ 酿造的葡萄酒相比, 圆叶葡萄酿造的葡萄酒起初的颜色更好, 但随着时间的推移非常容易发生褐变, 在加工和储存过程中也很容易失去红葡萄酒的典型颜色 (Sims & Morris, 1985)。这是因为与花色素单糖苷相比, 花色素双糖苷不容易与葡萄酒中其他化合物发生加合反应, 而且大部分圆叶葡萄酒的酚类化合物组成没有欧亚种葡萄酒复杂, 所以圆叶葡萄酒的花色苷不能形成很多聚合体化合物, 这些聚合体化合物普遍存在于欧亚种葡萄酒中, 并对葡萄酒成熟和陈酿的颜色稳定性起着至关重要的作用 (Sims & Morris, 1985, 1986)。而种间杂交品种酿造的葡萄酒在成熟和陈酿过程中的颜色稳定性同样不如不含花色素双糖苷的欧亚种 (Liang et al., 2011) 葡萄酒, 主要也是因为含有花色素双糖苷。

## 3 葡萄中糖基化花色苷合成的关键酶及其基因

### 3.1 花色素单糖苷合成的关键酶及其基因

葡萄花色苷的合成途径中, 花色素首先在二磷酸尿苷葡萄糖 - 3 - O - 类黄酮葡萄糖基转移酶 (3GT) 作用下形成花色素 - 3 - O - 葡萄糖苷, 这是花色苷合成途径中产生的第一个稳定的有色代谢物。Ford 等 (1998) 从欧亚种葡萄 ‘Shiraz’ 中克隆到了 3GT 基因 (*Vv3GT*), 并首次对该基因进行了体外功能验证, 证实该基因产物参与了葡萄花色素的 3 - O - 葡萄糖基转移反应。Offen 等 (2006) 首次获得了 *Vv3GT* 编码蛋白 (即 Vv3GT) 的晶体结构, 确定了其中的几个氨基酸残基为糖基供体和受体的结合位点, 是该酶催化活性的关键部位 (Offen et al., 2006; Breton et al., 2012)。

3GT 基因的表达对花色苷的合成和积累至关重要, 原因是其表达具有高度的时空特异性, 即只在有色葡萄品种转色后的果皮中表达 (Boss et al., 1996a, 1996b)。Kobayashi 等 (2001) 对欧亚种的白色葡萄品种及其红色芽变品种的 3GT 基因序列和基因表达进行了分析, 发现其同样只在红色

芽变品种中表达，但白色品种及其红色芽变品种的 3GT 序列（包括启动子区域）没有任何差异，说明葡萄中必然存在着控制 3GT 表达的调控基因。

近年来，非欧亚种葡萄花色苷合成机制也受到人们的关注。Hall 等（2011）从美洲种 ‘Concord’ 中克隆到了 3GT 基因（*Vl3GT*），序列分析表明 *Vl3GT* 与 *Vv3GT* 编码蛋白的氨基酸序列有 96% 的相似度，其异源表达产物以花色苷作为优先的糖基受体（与黄酮醇相比）。山葡萄（*V. amurensis*）‘双丰’的 3GT 基因（*Va3GT*）也被克隆出来（刘海峰 等，2009），其编码的氨基酸序列与 *Vv3GT* 和 *Vl3GT* 的相似度分别为 98% 和 97%。

3.2 花色苷双糖苷合成的关键酶及其基因

二磷酸尿苷葡萄糖 - 5 - O - 类黄酮葡萄糖基转移酶（5GT）负责将第 2 个葡萄糖基转移到花色苷单糖苷分子上，从而合成了花色苷双糖苷。近 10 年来人们才开始关注葡萄中花色苷双糖苷合成的关键酶及其基因，发现 5GT 基因在不同的葡萄种/品种中产生了丰富的变异（表 1）。

表 1 不同葡萄种/品种中的 5GT 等位基因  
Table 1 5GT alleles in different grape species/cultivars

种 Species	品种数量（名称） Cultivar number (name)	等位基因 Alleles		定位染色体 Locate chromosome	参考文献 Reference
		非功能性 Non-functional	功能性 Functional		
欧亚种 <i>V. vinifera</i>	70 (ssp. <i>vinifera</i> );	18	8 (W1, W2, W14, W15, W16, W17, W18, W19)	9	Yang et al., 2014
	52 (ssp. <i>sylvestris</i> )				
	1 (赤霞珠 Cabernet Sauvignon)	2	1	5	Xing, et al., 2015; 邢冉冉, 2016
		1		1	邢冉冉, 2016
山葡萄 <i>V. amurensis</i>	1		2 (W4, W5)	9	Yang et al., 2014; He et al., 2015
夏葡萄 <i>V. aestivalis</i>	2 (Lincecumii, Aestivalis)		4 (W19 ~ W22)	9	Yang et al., 2014
甜冬葡萄 <i>V. cinerea</i>	4		5 (W23 ~ W27)	9	Yang et al., 2014
美洲葡萄 <i>V. labrusca</i>	3		3 (W19, W10, W11)	9	Yang et al., 2014
河岸葡萄 <i>V. riparia</i>	4 (Zumbrunnen ...)		5 (W1, W9, W11, W12, W23)	9	Yang et al., 2014
沙地葡萄 <i>V. rupestris</i>	2		4 (W6, W7, W8, W13)	9	Yang et al., 2014
圆叶葡萄 <i>V. rotundifolia</i>	5 (Noble ...)		6 (W28 ~ W33)	9	Yang et al., 2014

He 等（2015）从山葡萄品种 ‘左山一’ 中分离鉴定出 *Va5GT* 基因，通过原核表达验证了该基因体外融合表达蛋白的功能，通过细胞定位将其蛋白产物定位于细胞质中。Hausmann 等（2009）从 ‘Diana’ (*V. vinifera*) 和 ‘Chambourcin’ (*V. rupestris*, *V. lincecumii*, *V. vinifera*) 的杂交品种 ‘Regent’ 中获得了 5GT 候选基因，Jánváry 等（2009）进一步克隆到了具有活性的 5GT 基因（5GT-*Cha*）及其不具活性的等位基因（5GT-*Dia*），5GT-*Cha* 来源于 ‘Chambourcin’，而 5GT-*Dia* 来源于 ‘Diana’，并对 5GT-*Dia* 进行定点突变使其重组蛋白具备了 5GT 酶的活性，由此推测欧亚种葡萄只含有花色苷单糖苷的原因是由于缺少合成花色苷双糖苷的显性等位基因。

以 Jánváry 等（2009）的研究为基础，Yang 等（2014）对 167 个不同葡萄种/品种的 5GT 等位基因的编码序列进行了分析，一共发现了 54 个等位基因，在所发现的 172 个突变中有 47 个突变使 5GT 的功能丧失。其中 18 个产生明显突变而丧失功能的等位基因是在欧亚种葡萄中分离得到的，这 18 个非功能性的等位基因并不存在于非欧亚种葡萄中；另外有 36 个功能性等位基因主要存在于非欧亚种葡萄中。但值得注意的是，在欧亚种葡萄中也发现了 8 个功能性的 5GT 等位基因，分别从欧亚种野生型（*V. vinifera* ssp. *sylvestris*）葡萄中克隆到了其中的 7 个基因，从欧亚种栽培品种（*V. vinifera* ssp. *vinifera*）中克隆到了其中的 4 个基因。在 70 个欧亚种栽培品种中，有 14 个品种含有功能性的 5GT 等位基因，包括 6 个有色品种（‘Eununi’、‘Sidezites Proimo’、‘Ajimi’、‘Zalovitico’、

‘Prokupac’和‘Black Kishmish’)和8个白色品种(‘Chaouch’、‘Husseine’、‘Dais-el-anz’、‘Divromo’、‘Mezes’、‘Kontocladi’、‘Ezerjo’和‘Perle de Csaba’), 这些品种基本都含有1个功能性5GT等位基因, 只有白色品种‘Dais-el-anz’含有2个功能性5GT等位基因。同时对含有功能性5GT等位基因的有色品种进行花色苷分析, 也确实检测到了花色苷双糖苷的存在, 这就解释了为什么在一些欧亚种葡萄中也存在花色苷双糖苷的现象。这项研究结果大大增进了人们对葡萄遗传多样性的了解, 并就糖基化花色苷组成这一酿酒品质的葡萄育种提供了分子基础。

上述研究中获得的5GT等位基因均位于葡萄的9号染色体上。Xing等(2015)首次从欧亚种‘赤霞珠’的5号染色体和17号染色体上克隆到了4个5GT等位基因, 其中位于5号染色体的*Vv5GT3*为功能性等位基因。酶学分析结果表明*Vv5GT3*的体外融合表达蛋白具有双重功能, 可以将葡萄糖基转移到花色苷和黄酮醇的3-O-位和5-O-位上, 系统发育分析表明该双重功能的酶属于UDP-葡萄糖基转移酶的5GT亚家族。进一步将*Vv5GT3*基因转入烟草中, 在转基因植株的花朵中检测到了花色苷双糖苷, 而对照植株并未检测到此类糖基化花色苷, 原核表达和瞬时表达的结果都证明了*Vv5GT3*为5GT功能性等位基因, 其转录产物具有5-O-葡萄糖基转移酶的功能(邢冉冉, 2016)。

## 4 葡萄中糖基化花色苷合成的转录调控

### 4.1 花色苷单糖苷合成的转录调控

#### 4.1.1 MYB转录因子基因多态性对花色苷单糖苷合成的影响

转录因子MYB通过调控3GT的表达, 对葡萄中花色苷单糖苷合成产生重要影响。Kobayashi等(2002)首次从四倍体欧美杂交品种‘巨峰’葡萄的果实中分离到了3个MYB相关的转录因子基因:*VlmybA1-1*、*VlmybA1-2*(图1)和*VlmybA2*, 并证实了*VlmybA1-1*可以通过诱导3GT的表达来调控花色苷的合成。随后, Kobayashi等(2004, 2005)对欧亚种栽培品种进行了深入的研究, 发现*VvmybA1*转录产物不存在于白色葡萄品种的果皮中, 却存在于有色葡萄品种的果皮中, 而且该基因在白色葡萄果皮中进行瞬时表达, 可以诱导花色苷的合成, 由此确定*VvmybA1*的表达才是葡萄着色, 即花色苷单糖苷合成的关键。

Kobayashi研究团队(Kobayashi et al., 2004; Yakushiji et al., 2006)最初从欧亚种栽培品种中分离得到了*VvmybA1*的3个等位基因:*VvmybA1a*、*VvmybA1b*和*VvmybA1c*, 其中*VvmybA1a*的启动子区域包含*Gret1*(葡萄逆转录转座子1, 属于Ty3-gypsy-型逆转录转座子), 这使得*VvmybA1a*的表达受阻, 而*VvmybA1b*和*VvmybA1c*都是具有转录功能的等位基因, *VvmybA1b*中*Gret1*的intra-LTR重组变成了solo-LTR, *VvmybA1c*则完全缺失了*Gret1*, 更像是*VvmybA1*在*Gret1*插入之前的原始序列(图1)。

随着研究的不断深入, 发现*mybA1*在不同葡萄种/品种中存在着更广泛的基因多态性。Yakushiji等(2006)在‘黑比诺’的白色芽变品种‘白比诺’中发现了非功能性等位基因*VvmybA1d*, 在白色品种‘Roditis’中克隆到的非功能性*VvmybA1<sup>ROD</sup>*在编码序列的最后缺失了135个碱基(Lijavetzky et al., 2006), 而Lijavetzky等(2006)从白色品种‘Sultanina’中发现了功能性等位基因*VvmybA1<sup>SUB</sup>*。Shimazaki等(2011)在3个源于东方的欧亚种品种中发现了在*VvmybA1*第2个内含子有33 bp的插入序列, 这个很短的插入序列使基因的转录活性降低, 导致了葡萄果皮花色苷含量较少, 颜色呈现为粉红色。Carrasco等(2015)从欧亚种野生型葡萄中发现了2个新的功能性等位基因*VvmybA1e*和*VvmybA1f*, 它们分别只存在于伊比利亚半岛和高加索地区的样品中。Azuma等(2008)又从美洲

葡萄中分离到了功能性等位基因 *VlmybA1-3* (图 1)。焦健等 (2013) 对 15 个中国野生葡萄种的 20 个单株的基因型进行了分析, 发现与欧亚种 ‘黑比诺’ 相比, 中国野生种葡萄在 *mybA1* 基因序列及启动子序列存在不同的碱基缺失、插入和替换, 且这些变异具有种间特异性。

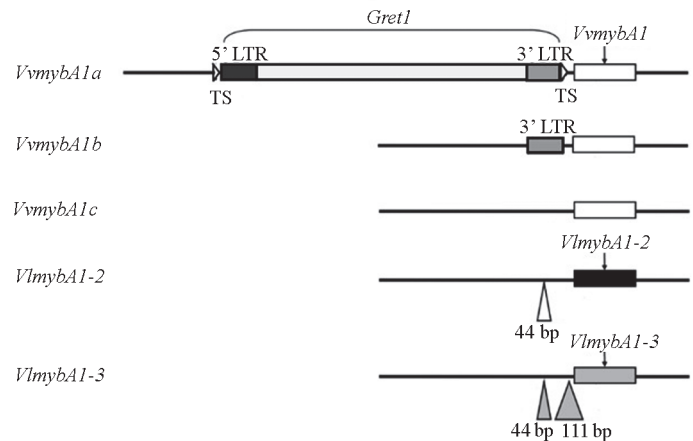


图 1 葡萄中典型的 *mybA1* 等位基因结构图  
(Kobayashi et al., 2004; Azuma et al., 2008)

*GretI*: 葡萄逆转转座子; LTR: 长末端重复; TS: *GretI* 插入的位点; Δ 表示插入序列, 不同的明暗程度表示序列存在差异。

Fig. 1 Structures of typical *mybA1* alleles in grapes

*GretI*: Grapevine retrotransposon 1; LTR: Long terminal repeat; TS: Duplicated target site for the *GretI* insertion;  
Δ means insertion sequences, different light and shade degrees show sequences exist differences.

虽然大量研究已经证实 *mybA1* 是决定葡萄花色苷单糖苷合成的主要基因, 但依然存在 *mybA1* 位点无法解释的现象, 也就是说还应存在其他调控基因。Walker 等 (2007) 从欧亚种中分离的 *VvmybA2* 与 *VvmybA1* 功能相似, Yakushiji 等 (2006) 确定了 1 个功能性等位基因 *VvmybA2r* 和 1 个非功能性等位基因 *VvmybA2w*。Carrasco 等 (2015) 从欧亚种野生型葡萄中又分离到了 1 个功能性等位基因 *VvmybA2C22* (野生型) 和其变异型非功能性等位基因。而 Kobayashi 等 (2002) 早就从 ‘巨峰’ 中分离到了具有功能的等位基因 *VlmybA2*。

4.1.2 *mybA1* 基因型对花色苷单糖苷合成的影响

在对不同葡萄种/品种 *mybA1* 的研究中发现, *mybA1* 的基因型与花色苷单糖苷的合成密切相关, 从而影响着葡萄果实的着色。有色葡萄品种都含有 1 ~ 2 个 *mybA1* 功能性等位基因, 如欧亚种葡萄的 *VvmybA1a/VvmybA1b* 或 *VvmybA1a/VvmybA1c* 杂合子、*VvmybA1c* 纯合子, 白色葡萄品种绝大部分属于欧亚种及其种间杂交品种, 是 *VvmybA1a* 的纯合子 (Kobayashi et al., 2004; Lijavetzky et al., 2006; Azuma, et al., 2007; This et al., 2007; Mitani et al., 2009)。但也有特例, 如在白色葡萄品种中也发现了 *VvmybA1a/VvmybA1b* 或 *VvmybA1a/VvmybA1c* 的杂合子 (This et al., 2007; 慕茜 等, 2011)。

4.1.3 颜色位点的单倍型对花色苷单糖苷合成的影响

目前研究发现, 决定欧亚种葡萄果实颜色的基因位点主要是位于 2 号染色体上的由 3 个 *myb* 相关基因 *VvmybA1*、*VvmybA2* 和 *VvmybA3* 组成的基因簇, 其中 *VvmybA1* 和 *VvmybA2* 可调节 3GT 的表达, 而 *VvmybA3* 的具体功能尚不清楚 (Fournier-Level et al., 2009)。*VvmybA1* 和 *VvmybA2* 位于同一染色体的相邻部位, 主要通过不同的单倍型组成实现功能, 如果其中一个基因发生突变而丧失功能, 另一个基因会继续发挥作用, 从而决定葡萄果实花色苷是否能够合成 (Walker et al., 2007)。例如,

单倍型 A (HapA) 包含 2 个非功能性的等位基因 *VvMybA1a* 和 *VvMybA2w*, 不能诱导合成花色苷; 单倍型 HapC-N 包含 2 个功能性等位基因 *VvMybA1c* 和 *VvMybA2r*, 单倍型 HapC-Rs 包含 1 个功能性等位基因 *VvMybA1c* 和 1 个非功能性等位基因 *VvMybA2w*, 均能诱导合成花色苷 (图 2)。Carrasco 等 (2015) 在欧亚种野生型的品种中, 在颜色位点上又发现了 5 个新的单倍型, 这些新的单倍型包含了 *VvmybA1e*、*VvmybA1f* 和 *VvmybA2C22* 的野生型或变异型的等位基因。

Azuma 等 (2011) 研究发现美洲种葡萄颜色位点上功能性 *VlmybA* 等位基因数与葡萄皮花色苷水平呈正相关, 如含有 2 个功能性等位基因的葡萄皮花色苷含量远远高于只含有 1 个功能性等位基因的, 而且功能性等位基因的种类也影响葡萄皮花色苷的水平, 如含有 HapE2 (*VlmybA1-3/VlmybA2*) 单倍型的葡萄皮花色苷含量明显高于含有 HapE1 (*VlmybA1-3/VlmybA1-2*) 单倍型的 (图 2)。所以 *mybA* 基因通过调控 *3GT* 的表达, 不仅能够控制 3-O-葡萄糖基花色苷合成与否, 同时也能够控制花色苷合成的水平 (Costantini et al., 2013; Huang et al., 2013)。

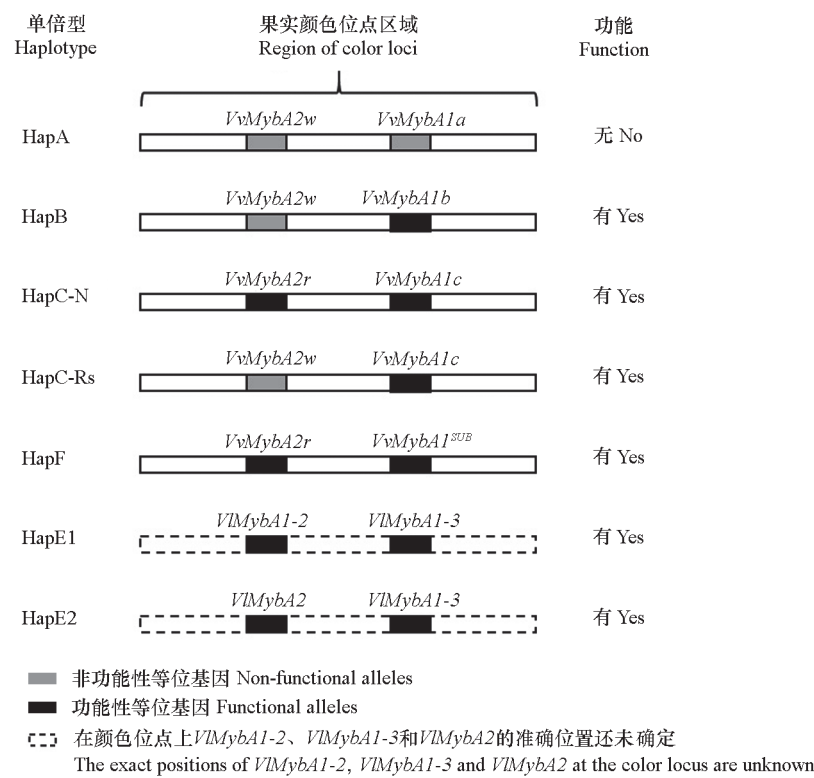


图 2 葡萄果实颜色位点的重要单倍型

Fig. 2 Key haplotypes at the color locus in grapes

(Walker et al., 2007; Azuma et al., 2008, 2011; Fournier-Level et al., 2010; Shimazaki et al., 2011)

## 4.2 花色素双糖苷合成的转录调控

对于花色素双糖苷的合成调控, 目前的研究表明结构基因 *5GT* 的基因型起着决定作用, 并未见转录调控方面的相关报道。但是从转录因子 MYBA 调控结构基因 *3GT* 表达的机制上推测, *5GT* 基因的表达很可能也受到 MYB 转录因子的调控, 转录因子 MYBA 在调控 *3GT* 表达的同时是否也能够调控 *5GT* 的表达, 是否还存在专门调控 *5GT* 表达的转录因子, 这些问题都有待于进一步的研究



来验证或者解答。

## 5 结语

由于世界上广泛应用的酿酒葡萄品种有 90%以上为欧亚种葡萄, 公认的优质红葡萄酒也均源自欧亚种葡萄, 绝大部分欧亚种葡萄只含有花色苷单糖苷, 花色苷单糖苷的合成是葡萄着色的关键, 所以葡萄花色苷合成调控的研究焦点一直集中在花色苷单糖苷上。但是为了提高欧亚种葡萄的抗性, 越来越多的欧亚种和其他野生种的种间杂交品种被培育出来, 其中品质优良的酿酒品种也得以栽培和应用, 而且近几年在少数欧亚种葡萄中也发现了花色苷双糖苷, 因此花色苷双糖苷的合成调控也引起了人们的关注。目前对于糖基化花色苷的合成和调控的研究已经取得重大进展, 但仍然有很多重要问题需要进一步探究, (1) 针对花色苷单糖苷合成的调控, 是否还存在其他的转录因子, 在葡萄基因组颜色位点上其他的调控因子还有哪些; (2) 针对花色苷双糖苷合成的调控, 要在葡萄基因组挖掘更多的 *5GT* 等位基因, 是否存在与花色苷单糖苷相同的调控机制, 比如转录因子 *MYBA1* 可以同时调控 *3GT* 和 *5GT* 的表达, 或者存在类似 *MYBA1* 的其他转录因子; (3) 两种糖基化花色苷的合成调控是否存在交互影响。为了全面揭示糖基化花色苷合成和调控的分子机制, 需要将基因组学、转录组学、代谢组学和表型组学相结合进行分析, 才能阐明葡萄糖基化花色苷的合成与调控网络, 为培育优质的酿酒葡萄品种提供分子基础。

## References

- Anderson D W, Julian E A, Kepner R E, Webb A D. 1970. Chromatographic investigation of anthocyanin pigments in *Vitis cinerea*. *Phytochemistry*, 9 (7): 1569 – 1578.
- Azuma A, Kobayashi S, Mitani N, Shiraishi M, Yamada M, Ueno T, Kono A, Yakushiji H, Koshita Y. 2008. Genomic and genetic analysis of *Myb*-related genes that regulate anthocyanin biosynthesis in grape berry skin. *Theoretical and Applied Genetics*, 117 (6): 1009 – 1019.
- Azuma A, Kobayashi S, Yakushiji H, Yamada M, Mitani N, Sato A. 2007. *VvmybA1* genotype determines grape skin color. *Vitis*, 46 (3): 154.
- Azuma A, Udo Y, Sato A, Mitani N, Kono A, Ban Y, Yakushiji H, Koshita Y, Kobayashi S. 2011. Haplotype composition at the color locus is a major genetic determinant of skin color variation in *Vitis labruscana* grapes. *Theoretical and Applied Genetics*, 122 (7): 1427 – 1438.
- Balik J, Kumšta M, Rop O. 2013. Comparison of anthocyanins present in grapes of *Vitis vinifera* L. varieties and interspecific hybrids grown in the Czech Republic. *Chemical Papers*, 67 (10): 1285 – 1292.
- Ballinger W E, Maness E P, Nesbitt W B, Carroll D E. 1973. Anthocyanins of black grapes of 10 clones of *Vitis rotundifolia*, Michx. *Journal of Food Science*, 38 (5): 909 – 910.
- Bishop P D, Nagel C W. 1984. Characterization of the condensation product of malvidin 3,5-diglucoside and catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32 (5): 1022 – 1026.
- Boss P K, Davies C, Robinson S P. 1996a. Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports differing in berry skin colour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2 (3): 163 – 170.
- Boss P K, Davies C, Robinson S P. 1996b. Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes. *Plant Molecular Biology*, 32 (3): 565.
- Breton C, Fournel-Gigleux S, Palcic M M. 2012. Recent structures, evolution and mechanisms of glycosyltransferases. *Current Opinion in Structural Biology*, 22 (5): 540 – 549.
- Carrasco D, Lorenzis G D, Maghradze D, Revilla E, Bellido A, Failla O, Arroyo-García R. 2015. Allelic variation in the *VvmybA1*, and *VvmybA2*, domestication genes in natural grapevine populations (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*). *Plant Systematics & Evolution*, 301 (6): 1613 – 1624.
- Costantini L, Malacarne G, Emanuelli F, Battilana J, Collier E, Lorenzi S, Masuero D, Troggio M, Vrhovsek U, Mattivi F, Moser C, Grando



- M S. 2013. The fine genetic regulation of anthocyanin and flavonol content in grapes. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 6 (2): 175 – 179.
- de la Cruz A A, Hilbert G, Riviere C, Mengin V, Ollat N, Bordenave L, Decroocq S, Delaunay J C, Delrot S, Merillon J M, Monti J P, Gomes E, Richard T. 2012. Anthocyanin identification and composition of wild *Vitis* spp. accessions by using LC-MS and LCNMR. *Analytica Chimica Acta*, 732 (1): 145 – 152.
- de Rosso M, Tonidandel L, Larcher R, Nicolini G, Ruggeri V, Dalla Vedova A, De Marchi F, Gardiman M, Flamini R. 2012. Study of anthocyanic profiles of twenty-one hybrid grape varieties by liquid chromatography and precursor-ion mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 732 (1): 120 – 129.
- Flamini R, Tomasi D. 2000. The anthocyanin content in berries of the hybrid grape cultivars Clinton and Isabella. *Vitis*, 39 (2): 79 – 81.
- Fournier-Level A, Le Cunff L, Gomez C, Doligez A, Ageorges A, Roux C, Bertrand Y, Souquet J M, Cheynier V, This P. 2009. Quantitative genetic bases of anthocyanin variation in grape (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) berry: a quantitative trait locus to quantitative trait nucleotide integrated study. *Genetics*, 183 (3): 1127 – 1139.
- Fournier-Level A, Lacombe T, Le Cunff L, Boursiquot J M, This P. 2010. Evolution of the *VvMybA* gene family, the major determinant of berry colour in cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Heredity*, 104: 351 – 362.
- Ford C M, Boss P K, Hoj P B. 1998. Cloning and characterization of *Vitis vinifera* UDP-Glucose: flavonoid 3-*O*-glucosyltransferase, a homologue of the enzyme encoded by the maize *Bronze-1* locus that may primarily serve to glucosylate anthocyanidins *in vivo*. *Journal of Biological Chemistry*, 273 (15): 9224 – 9233.
- Garcia-Viguera C, Bridle P. 1999. Influence of structure on colour stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid. *Food Chemistry*, 64 (1): 21 – 26.
- Hall D, Yuan X X, Murata J, De Luca V. 2011. Molecular cloning and biochemical characterization of the UDP-glucose: flavonoid 3-*O*-glucosyltransferase from Concord grape (*Vitis labrusca*). *Phytochemistry*, 74 (3): 90 – 99.
- Hausmann L K, Neumann R, Eibach E, Zyprian R, Topfer. 2009. Development of a molecular marker for an anthocyanin 5-*O*-glucosyltransferase homologous gene of *Vitis* ssp. Correlated with anthocyanin 3, 5-diglucoside formation in berry skin. *Acta Horticulturae*, 827 (827): 457 – 460.
- He F, Chen W K, Yu K J, Ji X N, Duan C Q, Reeves M J, Wang J. 2015. Molecular and biochemical characterization of the UDP-glucose: Anthocyanin 5-*O*-glucosyltransferase from *Vitis amurensis*. *Phytochemistry*, 117: 363 – 372.
- He J J, Liu Y X, Pan Q H, Cui X Y, Duan C Q. 2010. Different anthocyanin profiles of the skin and the pulp of Yan 7 (Muscat Hamburg × Alicante Bouschet) grape berries. *Molecules*, 15 (3): 1141 – 1153.
- Heier A, Blaas W, Dross A, Wittkowski R. 2002. Anthocyanin analysis by HPLC/ESI-MS. *American Journal of Enology & Viticulture*, 53 (1): 78 – 86.
- Huang Y F, Bertrand Y, Guiraud J L, Vialet S, Launay A, Cheynier V, Terrier N, This P. 2013. Expression QTL mapping in grapevine-revisiting the genetic determinism of grape skin colour. *Plant Science*, 207 (3): 18 – 24.
- Huang Z, Wang B, Williams P, Pace R D. 2009. Identification of anthocyanins in muscadine grapes with HPLC-ESI-MS. *LWT-Food Science and Technology*, 42 (4): 819 – 824.
- Jánváry L, Hoffmann T, Pfeiffer J, Hausmann L, Töpfer R, Fischer T C, Schwab W. 2009. A double mutation in the anthocyanin 5-*O*-glucosyltransferase gene disrupts enzymatic activity in *Vitis vinifera* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (9): 3512 – 3518.
- Jiao Jian, Liu Chong-huai, Fan Xiu-cai, Zhang Ying, Sun Hai-sheng, Jiang Jian-fu, Li Min. 2013. Expression and genotype analysis of *VvmybA1* in Chinese wild grapes and interspecific hybrids. *Scientia Agricultura Sinica*, 46 (12): 2514 – 2525. (in Chinese)
- 焦健, 刘崇怀, 樊秀彩, 张颖, 孙海生, 姜建福, 李民. 2013. 中国野生种葡萄及种间杂种 *VvmybA1* 基因型和表达分析. *中国农业科学*, 46 (12): 2514 – 2525.
- Kim M, Yoon S H, Jung M, Choe E. 2010. Stability of meoru (*Vitis coignetiea*) anthocyanins under photochemically produced singlet oxygen by riboflavin. *New Biotechnology*, 27 (4): 435 – 439.
- Kobayashi S, Ishimaru M, Ding C K, Yakushiji H, Goto N. 2001. Comparison of UDP-glucose: flavonoid 3-*O*-glucosyltransferase (UFGT) gene sequence between white grapes (*Vitis vinifera*) and their sports with red skin. *Plant Science*, 160 (3): 543 – 550.
- Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Hirochika H. 2004. Retrotransposon-induced mutations in grape skin color. *Science*, 304 (5673): 982.

- Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Hirochika H. 2005. Association of *VvmybA1* gene expression with anthocyanin production in grape (*Vitis vinifera*) skin-color mutants. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 74 (3): 196 – 203.
- Kobayashi S, Ishimaru M, Hiraoka K, Honda C. 2002. *Myb*-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis. *Planta*, 215 (6): 924 – 933.
- Liang Z, Owens C, Zhong G, Cheng L. 2011. Polyphenolic profiles detected in the ripe berries of *Vitis vinifera* germplasm. *Food Chemistry*, 129 (3): 940 – 950.
- Liang Z, Wu B, Fan P, Yang C, Duan W, Zheng X, Liu C, Li S. 2008. Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm. *Food Chemistry*, 111 (4): 837 – 844.
- Li Y, Ma R, Xu Z, Wang J, Chen F, Wang Z. 2013. Identification and quantification of anthocyanins in Kyoho grape juice - making pomace, Cabernet Sauvignon grape winemaking pomace and their fresh skin. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 93 (6): 1404 – 1411.
- Li Z, Pan Q H, Jin Z M, Mu L, Duan C Q. 2011. Comparison on phenolic compounds in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon wines from five wine-growing regions in China. *Food Chemistry*, 125 (1): 77 – 83.
- Lijavetzky D, Ruiz-Garcia L, Cabezas J A, de Andres M T, Bravo G, Ibanez A, Carreno J, Cabello F, Ibanez J, Martinez-Zapater J M. 2006. Molecular genetics of berry colour variation in table grape. *Molecular Genetics and Genomics*, 276 (5): 427 – 435.
- Liu Hai-feng, Yang Cheng-jun, Yu Miao, Wang Jun. 2009. cDNA cloning and analysis of UDP-glucose: flavonoid 3-*O*-glucosyltransferase (*3GT*) in *Vitis amurensis*. *Plant Physiology Communications*, 45 (8): 748 – 752. (in Chinese)
- 刘海峰, 杨成君, 于 淼, 王 军. 2009. 山葡萄 UDP - 葡萄糖: 类黄酮 - 3 - *O* - 葡萄糖基转移酶基因 (*3GT*) cDNA 的克隆和分析. *植物生理学通讯*, 45 (8): 748 – 752.
- Mazza G. 1995. Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35 (4): 341 – 371.
- Mazza G, Brouillard R. 1987. Color stability and structural transformations of cyanidin 3,5-diglucoside and four 3-deoxyanthocyanins in aqueous solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35 (3): 422 – 426.
- Mazzuca P, Ferranti P, Picariello G, Chianese L, Addeo F. 2005. Mass spectrometry in the study of anthocyanins and their derivatives: differentiation of *Vitis vinifera* and hybrid grapes by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 40 (1): 83 – 90.
- Mitani N, Azuma A, Fukai E, Hirochika H, Kobayashi S. 2009. A retrotransposon-inserted *VvmybA1a* allele has been spread among cultivars of *Vitis vinifera* but not North American or East Asian *Vitis* species. *Vitis*, 48 (1): 55 – 56.
- Mu Qian, Wu Wei-min, Fang Jing-gui, Sun Xin, Shangguan Ling-fei, Zhao Mi-zhen. 2011. Genotyping *VvmybA1* in 59 grapevine cultivars and characterization of the DNA fragment sequences. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (11): 2075 – 2084. (in Chinese)
- 慕 茜, 吴为民, 房经贵, 孙 欣, 上官凌飞, 赵密珍. 2011. 不同葡萄品种的 *VvmybA1* 基因型及其特征性 DNA 片段的序列分析. *园艺学报*, 38 (11): 2075 – 2084.
- Offen W, Martinez-Fleites C, Yang M, Lim E, Davis B G, Tarling C A, Ford C M, Bowles D J, Davies G J. 2006. Structure of a flavonoid glucosyltransferase reveals the basis for plant natural product modification. *The EMBO Journal*, 25 (6): 1396 – 1405.
- Picariello G, Ferranti P, Chianese L, Addeo F. 2012. Differentiation of *Vitis vinifera* L. and hybrid red grapes by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry analysis of berry skin anthocyanins. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 60 (18): 4559.
- Revilla E, Carrasco D, Benito A, Arroyo-Garcia R. 2010. Anthocyanin composition of several wild grape accessions. *American Journal of Enology & Viticulture*, 61: 536 – 543.
- Robinson W B, Weirs L D, Bertino J J, Mattick L R. 1966. The relation of anthocyanin composition to color stability of New York state wines. *American Journal of Enology & Viticulture*, 17 (3): 178 – 184.
- Sandhu A K, Gu L W. 2010. Antioxidant capacity, phenolic content, and profiling of phenolic compounds in the seeds, skin, and pulp of *Vitis rotundifolia* (muscadine grapes) as determined by HPLC-DAD-ESI-MS. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 58 (8): 4681 – 4692.
- Shimazaki M, Fujita K, Kobayashi H, Suzuki S. 2011. Pink-colored grape berry is the result of short insertion in intron of color regulatory gene. *PLoS ONE*, 6 (6): e21308.
- Shiraishi M, Yamada M, Mitani N, Ueno T. 2007. A rapid determination method for anthocyanin profiling in grape genetic resources. *Journal of the*

- Japanese Society for Horticultural Science, 76 (1): 28 – 35.
- Sims C A, Morris J R. 1985. A comparison of the color components and color stability of red wine from Noble and Cabernet Sauvignon at various pH levels. *American Journal of Enology & Viticulture*, 36 (3): 1 – 184.
- Sims C A, Morris J R. 1986. Effects of acetaldehyde and tannins on the color and chemical age of red muscadine (*Vitis rotundifolia*) wine. *American Journal of Enology & Viticulture*, 37 (2): 163 – 165.
- This P, Lacombe T, Cadle-Davidson M, Owens C L. 2007. Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*. *Theoretical and Applied Genetics*, 114 (4): 723 – 730.
- Tian Q, Giusti M M, Stoner G D, Schwartz S J. 2005. Screening for anthocyanins using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry with precursor-ion analysis, product-ion analysis, common-neutral-loss analysis, and selected reaction monitoring. *Journal of Chromatography A*, 1091 (1): 72 – 82.
- Vanburen J P, Bertino J J, Robinson W B. 1968. Stability of wine anthocyanins on exposure to heat and light. *American Journal of Enology & Viticulture*, 19 (3): 147 – 154.
- Vidal S, Hayasaka Y, Meudec E, Cheynier V, Skouroumounis G. 2004. Fractionation of grape anthocyanin classes using multilayer coil countercurrent chromatography with step gradient elution. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 52 (4): 713 – 719.
- Walker A R, Lee E, Bogs J, McDavid D A, Thomas M R, Robinson S P. 2007. White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes. *Plant Journal*, 49 (5): 772 – 785.
- Wang H, Race E J, Shrikhande A J. 2003. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (7): 1839 – 1844.
- Wang Jun, Yu Miao. 2010. Research progress on UDP-glycosyltransferases in grape secondary metabolism pathway. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (1): 141 – 150. (in Chinese)
- 王 军, 于 淼. 2010. 葡萄次生代谢 UDP - 糖基转移酶研究进展. *园艺学报*, 37 (1): 141 – 150.
- Xing R R, Li S Y, He F, Yang Z, Duan C Q, Li Z, Wang J, Pan Q H. 2015. Mass spectrometric and enzymatic evidence confirm the existence of anthocyanidin 3,5-*O*-diglucosides in cabernet sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grape berries. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 63 (12): 3251.
- Xing Ran-ran. 2016. Identification and synthesis mechanism of anthocyanidin 3, 5-*O*-diglucosides in Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grape berries [Ph. D. Dissertation]. Beijing: China Agricultural University. (in Chinese)
- 邢冉冉. 2016. ‘赤霞珠’葡萄中花色苷双糖苷的鉴定及其合成机制研究 [博士论文]. 北京: 中国农业大学.
- Yakushiji H, Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Jeong S T, Sueta T, Mitani N, Azuma A. 2006. A skin color mutation of grapevine, from black-skinned ‘Pinot Noir’ to white-skinned ‘Pinot Blanc’ is caused by the deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Biosci Biotechnol Biochem*, 70 (6): 1506 – 1508.
- Yang Y, Labate J A, Liang Z, Cousins P, Prins B, Preece J E, Aradhya M, Zhong G. 2014. Multiple loss-of-function 5-*O*-glucosyltransferase alleles revealed in *Vitis vinifera*, but not in other *Vitis*, species. *Theoretical & Applied Genetics*, 127 (11): 2433 – 2451.
- You Q, Chen F, Wang X, Sharp J L, You Y. 2012. Analysis of phenolic composition of Noble muscadine (*Vitis rotundifolia*) by HPLC-MS and the relationship to its antioxidant capacity. *Journal of food science*, 77 (10): C1115 – C1123.
- Zhao Q, Duan C Q, Wang J. 2010. Anthocyanins profile of grape berries of *Vitis amurensis*, its hybrids and their wines. *International Journal of Molecular Science*, 11 (5): 2212 – 2228.
- Zhu L, Zhang Y L, Deng J J, Li H R, Lu J. 2012a. Phenolic contents and antioxidant properties of wines made from North American grapes grown in China. *Molecules*, 17 (3): 3304 – 3323.
- Zhu L, Zhang Y L, Lu J. 2012b. Phenolic contents and compositions in skins of red wine grape cultivars among various genetic backgrounds and originations. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (3): 3492 – 3510.