

姜新, 陈伯伦, 刘芸, 等. 不同果袋对红阳猕猴桃果实色泽及花青苷合成相关基因表达的影响 [J]. 福建农业学报, 2023, 38 (9): 1054–1063.
JIANG X, LI Y W, et al. Effects of Various Fruit-bagging Pouches on Coloration and Anthocyanin Synthesis-related Gene Expression of Hongyang Kiwifruits [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38 (9): 1054–1063.

不同果袋对红阳猕猴桃果实色泽及花青苷 合成相关基因表达的影响

姜新¹, 陈伯伦², 刘芸¹, 张晋², 黄继魁³, 王茜¹, 李一伟^{1*}

(1. 广西农业科学院园艺研究所, 广西 南宁 530007; 2. 广西农业科学院, 广西 南宁 530007;
3. 广西乐业县农业农村局, 广西 乐业 533200)

摘要:【目的】探讨不同类型果袋对低纬度地区(广西)红阳猕猴桃果实色泽及花色苷合成相关基因表达的影响。【方法】以红阳猕猴桃为试材, 采用4种不同类型果袋(复合袋、黄袋、黑袋、白袋)套袋处理, 研究了各处理不同时期果实的中果皮叶绿素、类黄酮含量和色差值, 内果皮花色苷、可溶性糖、可溶性淀粉含量、色差值和花色苷合成相关基因表达情况。【结果】白袋处理的内果皮花色苷含量、*a*值、*h*值和中果皮的*L*值较低, 显著低于黑袋和复合袋处理, 中果皮叶绿素含量较高, 白袋处理促进了中果皮叶绿素含量的增加, 降低了内果皮花色苷着色, 其花色苷合成结构基因 *AcCHI* 和 *AcDFR2* 和 *AcF3GGT1* 在多个采样时期的表达量均为最低。复合袋处理内果皮花色苷含量较高、中果皮叶绿素含量较低, 与 *a* 值、*b* 值、色度角相对应, 同时提高了内果皮和中果皮的可溶性糖含量, 复合袋一方面促进了内果皮着色, 另一方面抑制了中果皮叶绿素合成, 同时其内果皮 *AcF3GTI* 表达量除 140 d 外均显著高于其他处理。黄袋和黑袋处理整体效果介于白袋和复合袋之间。【结论】套复合袋处理的果实叶绿素含量降低, 果肉呈现黄绿色, 花色苷含量提高, 红色更为凸显, 其 *AcF3GTI* 表达量显著提高, 可能在猕猴桃花青苷的合成过程中起着重要作用, 很有可能是花青苷合成的关键基因。

关键词: 猕猴桃; 花青苷; 结构基因; 套袋

中图分类号: S622.1

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2023) 09-1054-10

Effects of Various Fruit-bagging Pouches on Coloration and Anthocyanin Synthesis-related Gene Expression of Hongyang Kiwifruits

JIANG Xin¹, CHEN Bolun², LIU Yun¹, ZHANG Jin², HUANG Jikui³, WANG Xi¹, LI Yiwei^{1*}

(1. *Institute of Horticulture, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China*; 2. *Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China*; 3. *Agricultural and Rural Bureau of Leye County, Leye, Guangxi 533200, China*)

Abstract: 【Objective】Effects of different fruit-bagging pouches on the coloration and the expression of the gene related to anthocyanin synthesis in kiwifruits on low latitude lands were studied. 【Method】Composite, yellow-, black-, and white-colored pouches were used to bag the Hongyang kiwifruits in an experiment. Variations caused by the treatments on the chlorophyll, flavonoids, and color in the mesocarp as well as those on the anthocyanin, soluble sugar, soluble starch, color, and expression of the gene related to anthocyanin synthesis in the endocarp at different growth stages of the kiwifruits were monitored. 【Result】The anthocyanin content and colorimetric *a*, *h*, and *L* in the endocarp of the kiwifruits bagged in the white pouches were significantly lower than those of the fruits enveloped in the black or composite pouches. The chlorophyll in mesocarp was higher and the expressions of the anthocyanin synthesis genes *AcCHI*, *AcDFR2*, and *AcF3GGT1* the lowest during several sampling periods. The fruits bagged in the composite pouches contained significantly more anthocyanin in the endocarp and less chlorophyll in the mesocarp with corresponding *a*, *b*, and chromaticity angle than those in the other kinds of

收稿日期: 2023-05-22 修回日期: 2023-06-27

作者简介: 姜新 (1989-), 女, 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事果树栽培与遗传育种研究, E-mail: 510039105@qq.com

* 通信作者: 李一伟 (1983-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事果树育种与栽培研究, E-mail: 285847314@qq.com

基金项目: 广西特色作物试验站乐业猕猴桃试验站项目 (桂 TS202123); 广西农业科学院基本科研业务专项 (2021YT048)

pouch. The fruits also had a higher soluble sugar content in the endocarp and mesocarp, and a significantly higher expression level on *AcF3GT1* in the endocarp, except on the 140 d. Overall, the degrees of the effects on coloration and gene expression of the kiwifruits by bagging with the yellow or black pouch lied in between those with the white and the composite pouches.

【Conclusion】Kiwifruits bagged in the composite pouches had a chartreuse-colored pulp and a more reddish colored endocarp with lower chlorophyll but higher anthocyanin content than those in the other kinds of pouch. The significantly elevated *AcF3GT1* expression by any of the bagging treatments suggested an important role the gene might play in the anthocyanin synthesis in the fruits.

Key words: Kiwifruit; anthocyanin; structure gene; bagging

0 引言

【研究意义】猕猴桃为猕猴桃科 (*Actinidiaceae*) 猕猴桃属 (*Actinidia*) 的多年生雌雄异株落叶藤本浆果。猕猴桃果肉颜色变化各异, 我国分布的猕猴桃种质在果实颜色上主要划为3类, 即绿色、黄色和红色^[1], 其中猕猴桃红色系列果肉性状的形成是由于花色苷的积累, 花色苷含量及浓度决定了果实色泽^[2-4]。果实中花色苷的合成, 与品种特性有关, 由品种基因型决定, 也易受外界光照、温度等栽培环境的影响^[5], 其中光照环境对植物合成花色苷影响最大^[6]。光照能刺激花色苷合成途径中关键基因的表达来增加花色苷的积累量^[7]。而人工干预光照影响果实最直接的方式是套袋, 套不同果袋可调控果实生长发育过程中花色苷的生物合成从而调节果实表观色泽的形成^[8], 对猕猴桃生产具有指导意义。【前人研究进展】已有研究表明不同树种不同品种不同果袋对花色苷合成的影响效果不一致, 如张雷等^[9]对美人指葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 进行双层黑袋套袋处理, 显著促进了 *PAL*、*4CL*、*CHS1*、*CHS3*、*CHI1*、*F3'5'H*、*DFR*、*LDOX*、*OMT*、*3GT*、*5GT*、*MYB5a*、*Vlmyb A1-1* 等花色苷合成相关基因上调表达, 提高了花色苷含量; 而在紫金红霞葡萄果实转色前分别进行5种不同类型果袋 (白色纸袋、无纺布-白纸双层袋、绿色纸袋、蓝色纸袋、棕色纸袋) 套袋处理, 对6个花色苷合成相关基因的表达主要表现为抑制作用, 花色苷含量不同程度降低^[10]。在血橙 (*Citrus sinensis* L. Osbeck) 果实上套不同透光率的PE袋, 与花色苷合成相关的8个结构基因 *GST*、*ANS*、*CHS*、*DFR*、*F3H*、*UFGT*、*PAL*、*4CL* 和2个调节基因 *Ruby*、*MYBF1* 均不同程度地阻碍了在转色期间的表达, 其阻碍程度与PE袋的透光率相关, 从而推测这10个基因属于血橙果皮花色苷合成受光调控的关键基因^[11]。荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 持续套袋可抑制 *UFGT* 的表达从而阻碍果实中花色苷的积累, 除

袋后 *UFGT* 表达水平可显著升高, 花色苷的积累量升高^[12]。郭萧^[13]对2个品种甜樱桃 (*Prunus avium* L.) 进行套袋和正常光照试验, 发现光可以上调雷尼品种果实中 *PacCHS*、*PacCHI*、*PacF3H* 等结构基因的表达水平, 但不影响红灯品种果实中这些基因的转录水平。另外, 套袋也影响果实糖等内含物的改变, 糖不仅是花色苷合成的物质基础, 还可作为信号分子调控花色苷合成, 与花色苷的合成具有一定的相关性^[14-16]。低纬度地区 (广西) 种植猕猴桃以红阳品种为主, 成熟期在8月中上旬, 比陕西等地提前20d左右, 且品质较优^[17], 具有较高的经济价值。为满足猕猴桃需冷量需求, 广西一般选择高海拔地区种植猕猴桃, 但因夏季高温、强光照导致猕猴桃果实日灼以及擦伤。为提高果实外观和品质, 套袋是重要的栽培措施之一, 已研究表明不同果袋在果实周围形成了微环境的变化^[18], 因此不同果袋对红阳猕猴桃果实可溶性固形物等内在品质有着不同的影响, 其中复合袋和黑袋处理的红阳猕猴桃对内果皮红色的影响更为凸显^[19]。【本研究切入点】目前不同果袋对低纬度地区红阳猕猴桃影响的研究主要在果实品质方面, 而不同果袋对低纬度地区红阳猕猴桃果实花色苷合成相关基因表达影响的研究却鲜见报道。【拟解决的关键问题】本研究以红阳猕猴桃为材料, 进行不同套袋处理, 分析不同套袋对猕猴桃果实发育后期果实色泽变化及花色苷合成相关基因表达的影响, 为低纬度地区生产优质的红阳猕猴桃提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与方法

试验在广西百色市乐业县猕猴桃基地进行。以4a红阳猕猴桃为试材, 选择生长、结果、树势等基本一致的中庸树为试验用树。果园管理水平中等, 株行距为3m×2m, 一主两蔓整形。供试果袋4种, 分别是复合袋、黄袋、黑袋和白袋, 各果袋的

基本信息见表 1。以单株为小区，5 次重复，每处理共计 5 株树，盛花后 30 d 全株果实套袋，直至果实成熟。于盛花后第 95 天、110 天、125 天、140 天（成熟采摘）、147 天（后熟时间）5 个时期进行动态采样。每次每小区选择架面下部东、南、西、北

4 个方向各 1 个果实，每处理共计 20 个果实，沿赤道线切开果实后测定果肉色差，并根据着色部位的不同，用刀片分别切取果实中果皮和内果皮，立即用液氮冷冻，迅速带回实验室，保存于-80 ℃ 冰箱供后续提取和分析。

表 1 不同果袋类型规格
Table 1 Specifications of fruit-bagging pouches

	规格 Specifications/ (cm×cm)	产地 Production location	备注 Remarks
复合袋 Composite bag	15×18	信石家庄	外层为深黄色疏水纸，中间层为黑纸，里层为白无纺布
黄袋 Yellow bag	15×18	江苏徐州	单层纸袋，内外均为黄色
黑袋 Black bag	15×18	江苏徐州	单层纸袋，外黑内白
白袋 White bag	28×20	安徽安庆	单层无纺布，白色

1.2 项目测定

叶绿素的提取与测定参照陈建勋等^[20]的方法；可溶性糖含量、类黄酮含量的测定分别采用苏州科铭生物技术有限公司试剂盒（微量法）测定；果肉色差检测：使用日本柯尼卡美能达可携式色差计（CR-400）进行果肉色差检测，分别测定每个时期中果皮和内果皮的 *L*、*a*、*b* 值，每个果实进行 3 次重复测量。根据 *a*、*b* 值计算综合色度指标色泽比（ $h=a/b$ ）、色度角 $[h^*=\tan^{-1}(b/a)]^{[21-22]}$ ，花色苷采用 pH 示差法测定^[23]；花色苷合成关键结构基因表达水平测定：以 Actin 作为内参基因，利用实时荧光定量 PCR 分析 *CHI*、*DFR2*、*F3GT1*、*F3GGT1* 在红阳猕猴桃内果皮和中果皮不同发育时期的表达变化，引物设计参考文献 [24]。采用两步法进行荧光定量 PCR 反应：95 ℃，15 min；95 ℃，10 s；60 ℃，32 s；循环 40 次。根据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法^[25]，以 Actin 为内参，各时间点分别以第一次采样的对照组（黄袋）为参考进行归一化处理，计算基因的相对表达量。

1.3 数据分析

采用 Excel 2016 进行数据统计和制图，利用 SPSS 19.0 软件进行差异显著性分析，所有数据用邓肯氏新复极差法进行检验，显著水平 $P<0.05$ 。

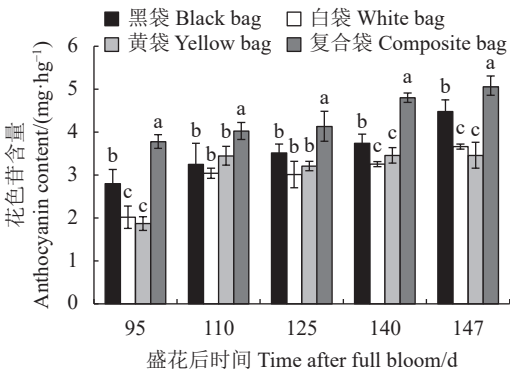
2 结果与分析

2.1 不同果袋对猕猴桃果肉色泽的影响

2.1.1 不同果袋对猕猴桃花色苷含量的影响

随着果实成熟，各处理猕猴桃内果肉花色苷含量整体呈逐渐上升趋势（图 1）。其中，复合袋处理花色苷含量在取样各个时期均显著高于其他 3 个处

理（ $P<0.05$ ，下同），白袋处理花色苷含量较低。140~147 d 果实后熟阶段，黄袋处理的花色苷含量几乎无变化，黑袋、白袋和复合袋均上升。说明复合袋处理能够显著提高红阳猕猴桃内果皮花色苷含量。



同一时期数据的不同字母表示在 $P<0.05$ 水平下差异显著，下同。
Data with different letters within same period indicate significant difference at $P<0.05$; those without letters, no significant difference. Same for below.

图 1 不同果袋对猕猴桃内果皮花色苷含量的影响
Fig. 1 Effect of different fruit-bagging pouches on anthocyanin content in kiwifruit endocarp

2.1.2 不同果袋对猕猴桃叶绿素含量的影响

各处理猕猴桃果实中果皮叶绿素含量呈波动变化，整体呈下降-上升-下降趋势，不同处理波动幅度及时期不一致（图 2）。白袋处理的叶绿素含量在各时期均显著高于其他 3 个处理；140~147 d 即果实后熟时期，中果皮叶绿素含量均大幅度下降，147 d 黑袋和复合袋处理的叶绿素含量分别为 0.30 和 0.26 $\text{mg}\cdot\text{hg}^{-1}$ ，白袋和单层袋处理的叶绿素含量分别为 1.07 和 0.76 $\text{mg}\cdot\text{hg}^{-1}$ ，果袋透光性越弱的处理，中果皮叶绿素含量越低，说明透光性差的果袋降低了中果皮叶绿素的合成。

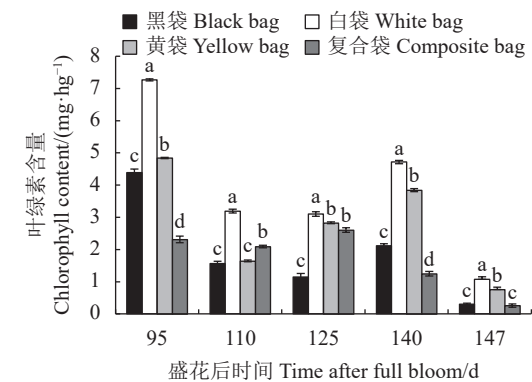


图 2 不同果袋对猕猴桃中果皮叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effect of different fruit-bagging pouches on chlorophyll content in kiwifruit mesocarp

2.1.3 不同果袋对猕猴桃类黄酮含量的影响

4 个处理的猕猴桃中果皮类黄酮含量变化不一（图 3）。黄袋呈下降-上升-下降趋势，黑袋处理一直呈下降趋势，复合袋和白袋处理呈下降-上升趋势，但变化幅度不同。说明，各果袋处理对猕猴桃果实中果皮的类黄酮含量影响不一，无显著规律。

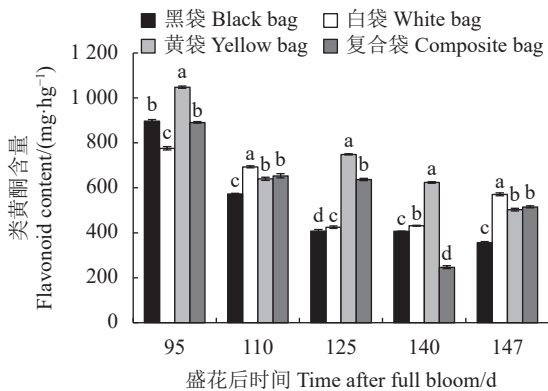


图 3 不同果袋对猕猴桃中果皮类黄酮含量的影响

Fig. 3 Effect of different fruit-bagging pouches on flavonoids content in kiwifruit mesocarp

2.1.4 不同果袋对猕猴桃果肉色差值的影响

L 代表亮度，*L* 值越大，表示亮度越高，反之越低。由表 2 可知，在果实后熟期内果皮和中果皮的 *L* 值快速下降，其中在整个采样时期，各处理间内果皮 *L* 值无显著差异，白袋和单层袋处理的中果皮 *L* 值在采样时期相较于黑袋和复合袋处理较低（有显著差异），说明透光性强的果袋降低了红阳猕猴桃中果皮的亮度。*a* 和 *b* 表示色度组分，*a* 正值时为红色，负值为绿色，*b* 正值时为黄色，负值时为蓝色，绝对值越大则表示颜色越深。由表 3 可知，在果实成熟后期 125~140 d，黑袋和复合袋的内果皮 *a* 值显著高于黄袋和白袋处理，在 125~147 d，黑袋和复合袋的中果皮 *a* 值显著高于黄袋和白袋处理。说明黑袋和复合袋提高了内果皮和中果皮的 *a* 值。由表 4 可知，随着果实成熟，内果皮和中果皮的 *b* 值均呈下降趋势，说明中果皮和内果皮黄色变浅，但各处理间无显著差异。*h* 为色调参数中的色泽比，当数值为负数时，越小绿色越深，数值为正数时，越大红色越深。由表 5 可知，*h* 值变化规律和 *a* 值基本一致。*h** 为色调参数中的色度角，变化幅度为 0~180°，依次为紫红、红、橙红、橙、黄、黄绿、绿和蓝绿，*h**=0° 为紫红，*h**=90° 为黄色，*h**=180° 为绿色。*h**>100° 时，*h** 值越大，果实绿色越深，*h**<50° 时，*h** 值越小，红色越深。由表 6 可知，中果皮色度角为 88~104°，主要颜色为黄绿色，且中果皮复合袋和黑袋处理色度角偏小，白袋处理和单层袋处理相对较大，两组（复合袋、黑袋；白袋、黄袋）在采样后期（125 d 之后）均有显著差异。在内果皮色度角 *h** 方面，白袋处理色度角较大，在多个采样时期与复合袋和黑袋处理具有显著差异；黄袋处理整体趋势平缓，保持在 47~59°，说明黑袋和复合袋处理促进了内果皮着色。

表 2 不同果袋对猕猴桃内果皮和中果皮 *L* 值的影响
Table 2 Effect of different fruit-bagging pouches on colorimetric *L* of kiwifruit endocarp and mesocarp

处理 Treatment	<i>L</i> 值-内果皮 <i>L</i> value-endocarp					<i>L</i> 值-中果皮 <i>L</i> value-mesocarp				
	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d
黑袋 Blackbag	60.49 a	58.93 a	57.20 a	53.59 a	36.54 a	63.92 a	66.39 a	72.64 a	71.01 a	57.45 a
白袋 Whitebag	59.38 a	59.59 a	58.57 a	51.57 a	35.86 a	62.94 a	64.27 a	64.73 c	63.66 c	49.52 a
黄袋 Yellowbag	57.11a	55.73 a	55.53 a	51.58 a	32.96 a	61.56 a	64.01 a	64.80 c	66.26 bc	49.26 a
复合袋 compositebag	61.42 a	58.09 a	54.92 a	54.29 a	37.97 a	63.46 a	67.48 a	69.88 b	70.23 ab	59.13 a

同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)，下同。
Different lowercase letters in the same column represented significant difference($P<0.05$), the same as below.

表 3 不同果袋对猕猴桃内果皮和中果皮 *a* 值的影响

Table 3 Effect of different fruit-bagging pouches on colorimetric *a* of kiwifruit endocarp and mesocarp

处理 Treatment	<i>a</i> 值-内果皮 a value-endocarp					<i>a</i> 值-中果皮 L value-mesocarp				
	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d
黑袋 Black bag	10.93 b	5.58 bc	17.82 a	17.16 a	12.86 ab	-8.58 a	-6.90 a	-3.18 a	1.00 a	0.47 a
白袋 White bag	9.18 b	1.89 c	9.73 b	12.72 b	8.66 b	-9.34 a	-9.09 b	-7.94 b	-4.56 c	-2.68 b
黄袋 Yellow bag	14.87 a	13.12 a	11.64 b	10.61 b	9.65 b	-8.46 a	-8.18 ab	-8.14 b	-5.10 c	-2.50 b
复合袋 Composite bag	9.15 b	9.99 ab	16.52 a	17.57 a	16.69 a	-8.62 a	-7.49 a	-4.28 a	0.19 b	0.82 a

表 4 不同果袋对猕猴桃内果皮和中果皮 *b* 值的影响

Table 4 Effect of different fruit-bagging pouches on colorimetric *b* of kiwifruit endocarp and mesocarp

处理 Treatment	<i>b</i> 值-内果皮 b value-endocarp					<i>b</i> 值-中果皮 b value-mesocarp				
	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d
黑袋 Black bag	21.65 a	25.09 a	15.80 a	15.35 a	11.35 a	35.98 a	35.82 ab	32.12 a	29.67 b	31.24 a
白袋 White bag	22.75 a	25.90 a	19.61 a	17.43 a	13.02 a	36.01 a	36.98 a	34.63 a	33.43 a	27.16 a
黄袋 Yellow bag	20.76 a	19.56 b	18.61 a	15.49 a	10.22 a	34.37 a	35.58 ab	34.99 a	34.13 a	26.75 a
复合袋 Composite bag	23.32 a	20.67 b	16.79 a	14.55 a	11.70 a	35.34 a	34.52 b	32.99 a	28.99 b	29.56 a

表 5 不同果袋对猕猴桃内果皮和中果皮 *h* 值的影响

Table 5 Effect of different fruit-bagging pouches on colorimetric *h* of kiwifruit endocarp and mesocarp

处理 Treatment	<i>h</i> 值-内果皮 h value-endocarp					<i>h</i> 值-中果皮 h value-mesocarp				
	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d
黑袋 Black bag	0.55 ab	0.24 bc	1.16 a	1.17 a	1.17 ab	-0.24 a	-0.19 a	-0.10 a	0.04 a	0.02 a
白袋 White bag	0.41 b	0.07 c	0.50 b	0.80 a	0.69 b	-0.26 b	-0.25 c	-0.23 b	-0.14 c	-0.10 b
黄袋 Yellow bag	0.72 a	0.69 a	0.65 b	0.71 a	0.99 ab	-0.25 ab	-0.23 bc	-0.23 b	-0.15 c	-0.10 b
复合袋 Composite bag	0.45 ab	0.48 ab	1.01 a	1.24 a	1.45 a	-0.25 ab	-0.22 ab	-0.13 a	0.01 b	0.03 a

表 6 不同果袋对猕猴桃内果皮和中果皮色度角 *h** 的影响

Table 6 Effect of different fruit-bagging pouches on colorimetric hue angle of kiwifruit endocarp and mesocarp

处理 Treatment	色度角 <i>h</i> *-内果皮 Hue angle/°-endocarp					色度角 <i>h</i> *-中果皮 Hue angle/°-mesocarp				
	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d	95 d	110 d	125 d	140 d	147 d
黑袋 Black bag	63.13 ab	77.78 a	42.23 b	41.78 ab	41.61 b	102.46 b	99.92 c	94.63 b	89.04 b	89.28 b
白袋 White bag	68.82 a	86.84 a	64.48 a	53.51 ab	56.91 a	103.61 a	102.86 a	101.97 a	96.81 a	94.65 a
黄袋 Yellow bag	55.33 b	57.23 b	58.26 a	56.64 a	46.98 ab	102.88 ab	102.01 ab	102.17 a	97.55 a	94.59 a
复合袋 Composite bag	66.78 ab	65.11 b	46.06 b	40.66 b	35.26 b	102.76 ab	101.29 bc	96.35 b	89.14 b	88.29 b

表 7 猕猴桃内果皮色度角 h^* 与花色苷积累的相关分析结果
Table 7 Correlations between soluble sugar and anthocyanin accumulation in kiwifruit endocarp

	黑袋 Black bag	白袋 White bag	黄袋 Yellow bag	复合袋 Composite bag
相关性 relevance	-0.665	-0.350	-0.125	-0.930*

**表示极显著相关 ($P<0.01$), *表示显著相关 ($P<0.05$), 下同。
** represented extremely significant difference($P<0.01$), * indicates significant correlation ($P<0.05$). The same as below.

对红阳内果皮各处理、各时期的色度角与花色苷含量进行相关性分析(表 7), 复合袋处理的色度角与花色苷有显著相关性, 相关系数为-0.930, 其他各处理的花色苷与色度角未呈显著相关性。

2.2 不同果袋对猕猴桃果实可溶性糖含量的影响

2.2.1 不同果袋对猕猴桃可溶性糖的影响

由图 4~5 可知, 内果皮和中果皮两个部位间的可溶性糖含量接近。不同果袋处理的红阳猕猴桃内果皮可溶性糖含量在采样期间呈持续上升趋势(图 4)。其中 140~147 d 后熟阶段上升幅度较大。140 d 采摘时, 复合袋处理和黑袋处理的可溶性糖含量较高, 均显著高于白袋和黄袋处理。147 d 后熟后, 复合袋处理的内果皮可溶性糖含量最高, 为 $127.04\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 显著高于其他 3 个处理, 比 140 d 增加了 $71.78\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。说明复合袋处理显著提高了内果皮可溶性糖含量。中果皮方面(图 5), 140 d 采收时, 复合袋和黑袋处理的可溶性糖含量较高, 显著高于黄袋和白袋, 147 d 后熟后, 黑袋处理的含量显著高于其他各处理。说明黑袋处理显著提高了中果皮的可溶性糖含量。

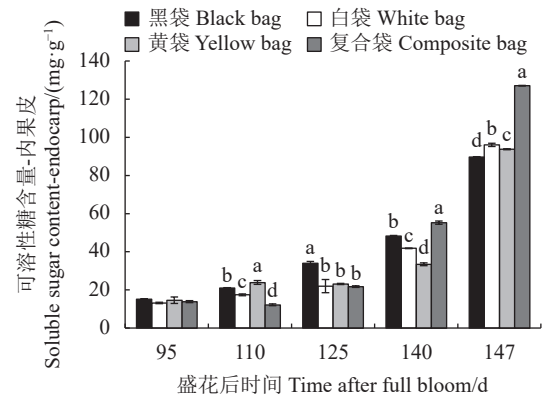


图 4 不同果袋对猕猴桃内果皮可溶性糖含量的影响
Fig. 4 Effect of different fruit-bagging pouches on soluble sugar content in kiwifruit endocarp

2.2.2 不同果袋处理猕猴桃内果皮可溶性糖含量和花色苷含量的相关性分析

通过相关性分析表明(表 8), 黑袋处理和复合

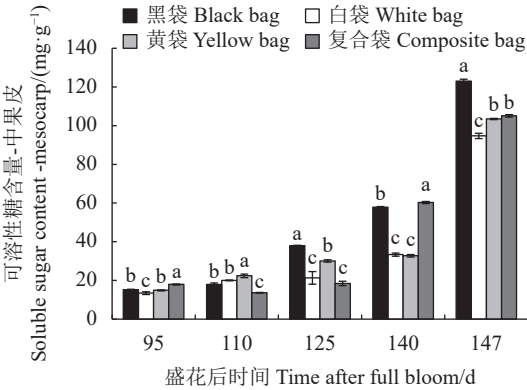


图 5 不同果袋对猕猴桃中果皮可溶性糖含量的影响
Fig. 5 Effect of different fruit-bagging pouches on soluble sugar content in kiwifruit mesocarp

表 8 猕猴桃内果皮可溶性糖与花色苷积累的相关分析结果
Table 8 Correlation between soluble sugar and anthocyanin accumulation in kiwifruit endocarp

	黑袋 Black bag	白袋 White bag	黄袋 Yellow bag	复合袋 Composite bag
相关性 relevance	0.975**	0.758	0.460	0.912*

袋处理的猕猴桃内果皮可溶性糖和花色苷含量分别具有极显著相关和显著相关(0.975 和 0.912), 白袋和黄袋处理无显著相关性(0.758 和 0.460)。

2.3 不同套袋处理猕猴桃内果皮花色苷合成相关结构基因的表达分析

克隆的 4 个与花青苷合成相关的结构基因在不同处理下内果皮中的实时定量表达情况如图 6 所示。在整个采样时期, 各结构基因的表达量在 95 d 时较高, 在采收(140 d)及后熟期(147 d)较低。 $AcCHI$ 和 $AcDFR2$ 是花色苷合成的前期结构基因, 由图 6 可知, 在采样期间, 各处理的表达量呈波动趋势, 白袋处理的 $AcCHI$ 和 $AcDFR2$ 表达量相比其他各处理较低; 黑袋处理的 $AcCHI$ 和 $AcDFR2$ 表达量在 140 d 时显著高于其他各处理, 黄袋处理的 $AcCHI$ 和 $AcDFR2$ 表达量在 110 d 时均显著高于其他处理。 $AcF3GT1$ 和 $AcF3GGT1$ 属于 $UFGT$ 基因家族, 在采样时期, 整体呈波动趋势, 与 $AcCHI$ 、 $AcDFR2$ 和 $AcF3GT1$ 在 147 d 后熟期表达量下降趋势有所不同, $AcF3GGT1$ 在 147 d 时表达量增加。在 $AcF3GT1$ 表达量方面, 复合袋除 140 d 外, 其他各时期表达量均为最高, 黑袋处理在 140 d 显著高于其他处理; 在 $AcF3GGT1$ 表达量方面, 黄袋处理在 110、125 和 147 d 表达量较高, 黑袋处理在 125~147 d 时期表达量较高, 且在 140 d 显著高于其他处理, 白袋处理在 110~147 d 时期均为最低。

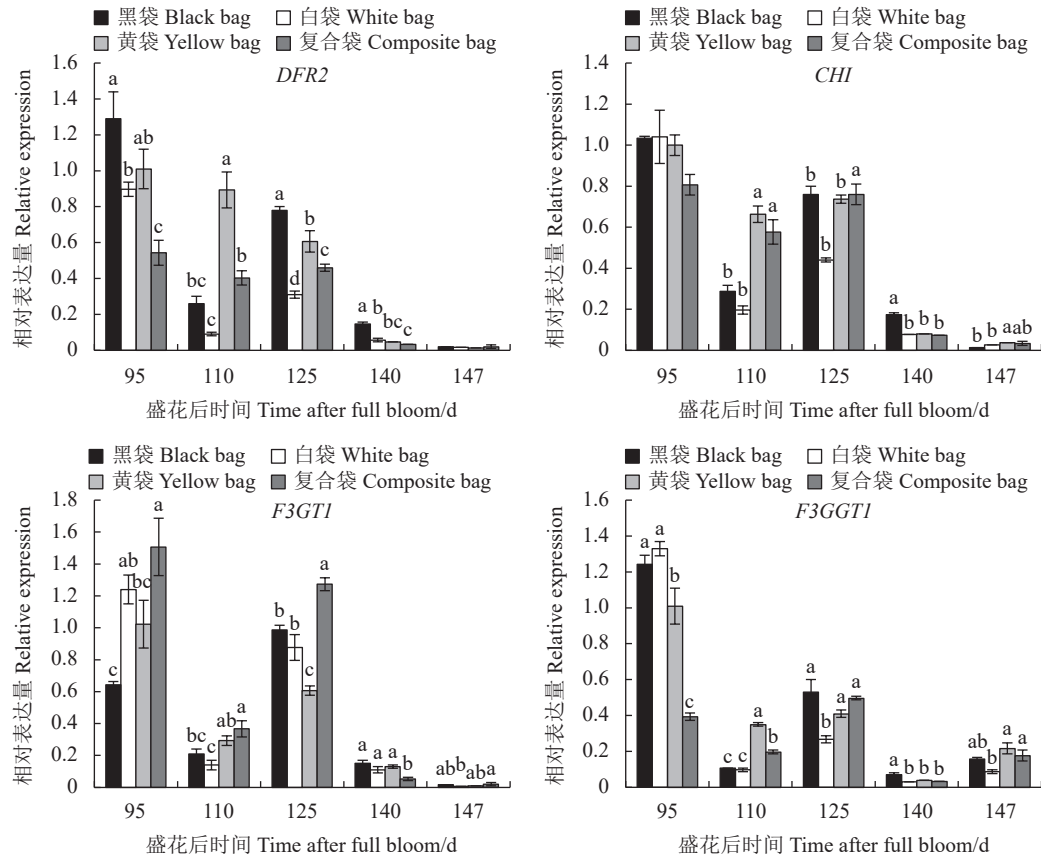


图 6 不同果袋对猕猴桃内果皮花色苷合成的结构基因表达的影响

Fig. 6 Effect of different fruit-bagging pouches on structural gene expression of kiwifruit mesocarp

3 讨论与结论

光照是果实合成花色苷的必要前提, 花色苷合成路径中的结构基因大多数为光诱导基因。套袋等栽培技术可以通过改变光照等果实周围环境, 有效调控苹果 (*Malus domestica* Borkh.)^[26]、葡萄^[27]、樱桃^[13]、桃 (*Punus persica* L.)^[28-29]、草莓 (*Fragaria × ananassa* Duch)^[30]、李 (*Prunus salicina* Lindl.)^[31] 等果实着色。研究表明, 在猕猴桃套袋试验中, 套袋与不套袋相比, 能使中华猕猴桃红肉系列红阳果实中果皮、内果皮的色度角明显降低, 促进中果皮绿色变淡, 提高花色苷的含量和相关花色苷结构基因和调控基因的表达, 花色苷基因包括 *CHS*、*CHI*、*F3H*、*F3'H*、*DFR*、*LDOX*、*F3GT*、*AcMYB10*, 套袋降低了叶绿素含量和 *GLUTR* 的表达水平^[23-24,32]。

复合袋处理花色苷含量在取样时期均显著高于其他 3 个处理, 说明复合袋处理能够显著提高红阳猕猴桃内果皮花色苷含量, 而复合袋是 3 层袋, 在 4 种处理中透光性最低, 也说明光照阻碍红阳猕猴桃花色苷的积累, 这与李玉阔等^[32]、杨刚等^[33] 研究结果一致。在叶绿素方面, 单层白色无纺布袋处理的叶绿素含量最高, 黑袋和复合袋处理的叶绿素含量

较低, 这与陈成等^[34] 使用白袋和外黄内黑果袋处理海沃德猕猴桃结果一致: 白色袋处理果肉颜色偏绿色, 外黄内黑袋处理果肉颜色偏黄色, 说明外黄内黑处理的叶绿素含量降低。其原因为套袋能够使叶绿素的简单分类物质合成受到抑制, 光照越少, 效果越明显。在类黄酮方面, 各果袋处理间无显著规律。

色差值方面, 各处理间 *a* 值、*b* 值、*h* 值和色度角 *h** 均有不同部位间的显著差异。在 *L* 值方面, 白袋和黄袋处理的中果皮 *L* 值在采样时期相较于黑袋和复合袋处理较低, 说明透光性强的果袋降低了红阳猕猴桃中果皮的亮度。内果皮 *a* 值均为正值, 白袋处理的内果皮 *a* 值最低, 说明白色高透光果袋降低了内果皮红色着色; 中果皮 *a* 值主要为负值, 黑袋和复合袋处理中果皮在采样时期均大于白袋和黄袋处理, 说明透光性差的果袋降低了中果皮绿色也就是叶绿素的合成。在 *b* 值方面, 果实部位间的差异说明, 中果皮黄色比内果皮深, 但各处理间无显著差异, *h* 值和 *a* 值趋势近似。在色度角 *h** 方面, 中果皮复合袋和黑袋处理色度角偏小, 白袋处理和单层袋处理相对较大, 说明随着果实发育, 中果皮颜色由绿色缓慢趋向黄绿色, 但在此试验中, 各处理

的类黄酮含量无显著规律,故推测原因可能是透光性强的果袋促进了中果皮叶绿素的积累,遮盖了黄色,但未对类黄酮物质有所影响;内果皮色度角 h^* 方面,黑袋和复合袋处理在多个时期显著小于白袋处理,说明黑袋和复合袋处理促进了内果皮着色,这与李玉阔等^[32]试验中红阳一直套袋处理的色度角 h^* 小于不套袋和套袋后解袋处理的相一致。

可溶性糖含量方面,复合袋处理提高了中果皮和内果皮的可溶性糖含量,黑袋处理显著提高中果皮可溶性糖含量,这与施春晖等^[21]各种套袋间可溶性糖含量无显著差异结果不一致。黑袋和复合袋处理的可溶性糖含量与花色苷含量具有相关性,研究表明:糖含量与花色苷含量存在一定关系,花色苷是由花色素与糖通过糖苷键缩合而成,糖是花色苷合成的前体成分^[14-16],这说明黑色袋和复合袋提高可溶性糖含量的同时可能促进了花色苷的合成。

在花色苷合成结构基因表达方面,白袋处理 $AcCHI$ 和 $AcDFR2$ 和 $AcF3GGT1$ 多个采样时期的表达量均为最低,这也与白袋处理内果皮花色苷含量、 a 值、 h 值较低, h^* 较高相符合;Montefiori等^[3]和黄春辉等^[23]研究结果表明, $F3GT1$ 可能是红肉猕猴桃花青苷合成途径中的关键基因,本研究中复合袋促进了果实内果皮花色苷的合成,同时 $AcF3GT1$ 表达量除140 d,其他各时期表达量均为最高,故推测 $AcF3GT1$ 在花色苷合成中起到了关键作用;黑袋和黄袋处理的各基因表达量呈波动趋势,在不同时期高低起伏。

综上,4种不同果袋处理对红阳猕猴桃的影响表明:单层白色无纺布袋处理的内果皮花色苷含量、 a 值、 h 值和中果皮的 L 值较低,显著低于黑袋和复合袋处理,中果皮叶绿素含量较高,说明白袋处理促进了中果皮叶绿素含量的增加,降低了内果皮花色苷着色,这也与 $AcCHI$ 和 $AcDFR2$ 和 $AcF3GGT1$ 多个采样时期的表达量均为最低相符合。3层复合袋处理内果皮花色苷含量较高、中果皮叶绿素含量较低,与 a 值、 b 值、色度角相对应,说明复合袋一方面促进了内果皮着色,另一方面抑制了中果皮叶绿素合成,同时内果皮 $AcF3GT1$ 在多个时期显著高于其他处理,推测 $AcF3GT1$ 可能是红肉猕猴桃花青苷合成途径中的关键基因。黄袋和黑袋处理整体效果介于白袋和复合袋之间。

参考文献:

[1] 赵洋,穆雪,李春艳,等.猕猴桃属(*Actinidia* Lindl.)植物亲缘关系研究进展[J].果树学报,2019,36(9):1214-1228.

ZHAO Y, MU X, LI C Y, et al. Research advances on the genetic relationships of kiwifruit (*Actinidia* Lindl.) [J]. *Journal of Fruit Science*, 2019, 36 (9) : 1214-1228. (in Chinese)

[2] MONTEFIORI M, COMESKEY D J, WOHLERS M, et al. Characterization and quantification of anthocyanins in red kiwifruit (*Actinidia* spp.) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57 (15) : 6856-6861.

[3] MONTEFIORI M, ESPLEY R V, STEVENSON D, et al. Identification and characterisation of F3GT1 and F3GGT1, two glycosyltransferases responsible for anthocyanin biosynthesis in red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis*) [J]. *The Plant Journal*, 2011, 65 (1) : 106-118.

[4] 刘颖,赵长竹,吴丰魁,等.红肉猕猴桃花色苷组成及浸提研究[J].果树学报,2012,29(3):493-497.

LIU Y, ZHAO C Z, WU F K, et al. Identification and extraction of anthocyanins in red-fleshed kiwifruit [J]. *Journal of Fruit Science*, 2012, 29 (3) : 493-497. (in Chinese)

[5] 高磊,李慧,郑焕,等.果树中花色苷的生物合成及其调控机制研究进展[J].江苏农业学报,2022,38(1):258-267.

GAO L, LI H, ZHENG H, et al. Advances in biosynthesis and regulation mechanism of anthocyanins in fruit trees [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 38 (1) : 258-267. (in Chinese)

[6] 高飞,柯斌,金韬,等.光照对植物合成花色素苷的影响研究进展[J].中国农学通报,2014,30(34):6-10.

GAO F, KE Y, JIN T, et al. Effects of light on anthocyanin synthesis in plants [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, 30 (34) : 6-10. (in Chinese)

[7] 胡可,韩科厅,戴思兰.环境因子调控植物花青素苷合成及呈色的机理[J].植物学报,2010,45(3):307-317.

HU K, HAN K T, DAI S L. Regulation of plant anthocyanin synthesis and pigmentation by environmental factors [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2010, 45 (3) : 307-317. (in Chinese)

[8] 张庆田,艾军,李昌禹,等.果实花色苷的生物合成及调控[J].特产研究,2010,32(4):65-67.

ZHANG Q T, AI J, LI C Y, et al. Research on biosynthesis and regulation of fruit anthocyanin [J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2010, 32 (4) : 65-67. (in Chinese)

[9] 张雷,贾玥,王继源,等.套袋对‘美人指’葡萄花色苷组分及合成相关基因表达的影响[J].果树学报,2014,31(6):1032-1039.

ZHANG L, JIA Y, WANG J Y, et al. Effects of bagging on anthocyanins component and biosynthetic genes expression in ‘Manicure finger’ grape [J]. *Journal of Fruit Science*, 2014, 31 (6) : 1032-1039. (in Chinese)

[10] 王西成,吴伟民,王博,等.果袋类型对‘紫金红霞’葡萄果实品质及花色苷合成相关基因表达的影响[J].西北植物学报,2021,41(12):2113-2121.

WANG X C, WU W M, WANG B, et al. Effect of bag types on fruit quality and anthocyanin biosynthesis related genes expression of ‘zijinhongxia’ grape berry [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41 (12) : 2113-2121. (in Chinese)

- [11] 杨海健, 张云贵, 周心智, 等. 不同PE材料遮光下血橙转色果皮花色苷合成及其相关基因的表达分析 [J]. 浙江农业学报, 2021, 33 (10): 1861-1869.
- YANG H J, ZHANG Y G, ZHOU X Z, et al. Analysis of anthocyanin synthesis and related gene expression in blood orange peel under different PE materials shading during fruit coloring period [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2021, 33 (10): 1861-1869. (in Chinese)
- [12] ZHANG H N, LI W C, WANG H C, et al. Transcriptome profiling of light-regulated anthocyanin biosynthesis in the pericarp of *Litchi* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 963.
- [13] 郭萧. 光与激素调控不同色泽甜樱桃果实花色苷合成机理初探[D]. 北京: 中国农业大学, 2019.
- GUO X. Study of the regulatory mechanism of light and phytohormone in anthocyanin biosynthesis in differently colored cherries (*Prunus avium* L.) [D]. Beijing: China Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [14] MOALEM-BENO D, TAMARI G, LEITNER-DAGAN Y, et al. Sugar-dependent gibberellin-induced *Chalcone* synthase gene expression in *Petunia* corollas [J]. *Plant Physiology*, 1997, 113 (2): 419-424.
- [15] SOLFANELLI C, POGGI A, LORETI E, et al. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2006, 140 (2): 637-646.
- [16] 杨思玲, 金欢淳, 张培安, 等. 5-氨基乙酰丙酸处理对葡萄果实品质及相关基因表达的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2023, 46 (4): 645-657.
- YANG S L, JIN H C, ZHANG P A, et al. Effects of 5-aminolevulinic acid treatment on the quality of grape berries and the expression levels of related genes [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2023, 46 (4): 645-657. (in Chinese)
- [17] 陈伯伦, 张晋, 黄继魁, 等. SCoT分子标记在猕猴桃遗传多样性分析与变异鉴定上的应用 [J]. 农业生物技术学报, 2018, 26 (1): 77-86.
- CHEN B L, ZHANG J, HUANG J K, et al. Application of SCoT markers on genetic diversity analysis and variation identification of *Actinidia* [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2018, 26 (1): 77-86. (in Chinese)
- [18] 张建光, 王惠英, 王梅, 等. 套袋对苹果果实微域生态环境的影响 [J]. 生态学报, 2005, 25 (5): 1082-1087.
- ZHANG J G, WANG H Y, WANG M, et al. Effect of bagging on microenvironments of apple fruits [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (5): 1082-1087. (in Chinese)
- [19] 姜新, 陈伯伦, 张晋, 等. 不同果袋对低纬度高海拔地区猕猴桃果实着色及品质的影响 [J]. 北方园艺, 2022 (13): 35-42.
- JIANG X, CHEN B L, ZHANG J, et al. Effects of different types of fruit bags on fruit coloring and quality of 'Hongyang' kiwifruit in low latitude and high altitude areas [J]. *Northern Horticulture*, 2022 (13): 35-42. (in Chinese)
- [20] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002: 355-356.
- CHEN J X, WANG X F. Experimental instruction of plant physiology[M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2002: 355-356. (in Chinese)
- [21] 施春晖, 骆军, 张朝轩, 等. 不同果袋对'红阳'猕猴桃果实色泽及品质的影响 [J]. 上海农业学报, 2013, 29 (3): 32-35.
- SHI C H, LUO J, ZHANG C X, et al. Effects of different fruit bags on fruit color and quality of kiwifruit variety 'Hongyang' [J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2013, 29 (3): 32-35. (in Chinese)
- [22] 王利群, 戴雄泽. 色差计在辣椒果实色泽变化检测中的应用 [J]. 辣椒杂志, 2009, 7 (3): 23-26, 33.
- WANG L Q, DAI X Z. Application of colorimeter for testing its color change during the development of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit [J]. *Journal of China Capsicum*, 2009, 7 (3): 23-26, 33. (in Chinese)
- [23] 黄春辉, 葛翠莲, 张晓慧, 等. '红阳'猕猴桃突变体果实花青苷合成相关结构基因的表达分析 [J]. 果树学报, 2014, 31 (2): 169-174, 164.
- HUANG C H, GE C L, ZHANG X H, et al. Expression analysis of structural genes related to anthocyanin synthesis in a mutant of 'Hongyang' kiwifruit [J]. *Journal of Fruit Science*, 2014, 31 (2): 169-174, 164. (in Chinese)
- [24] 葛翠莲. 红肉猕猴桃果肉色泽变化及花青苷合成相关基因的克隆与表达[D]. 南昌: 江西农业大学, 2014.
- GE C L. Changes of flesh color, cloning and expression of anthocyanin biosynthesis related genes in red-flesh kiwifruit [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [25] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25 (4): 402-408.
- [26] 薛晓敏. 套袋苹果果皮光照诱导后黑暗着色机理解析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- XUE X M. Analysis of dark coloring mechanism of bagged apple peel induced by light [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2021. (in Chinese)
- [27] GUAN L, DAI Z W, WU B H, et al. Anthocyanin biosynthesis is differentially regulated by light in the skin and flesh of white-fleshed and teinturier grape berries [J]. *Planta*, 2016, 243 (1): 23-41.
- [28] 姜新, 罗瑞鸿, 李一伟, 等. 不同类型果袋对秋蜜桃1号果实品质形成和果皮色素变化的影响 [J]. 西南农业学报, 2021, 34 (11): 2473-2481.
- JIANG X, LUO R H, LI Y W, et al. Effects of different bagging on fruit quality and variation of skin pigment of qiunitao No. 1 [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 34 (11): 2473-2481. (in Chinese)
- [29] 柳蕴芬, 刘莉, 段艳欣, 等. 光对红肉桃果肉红色形成的影响 [J]. 中国农学通报, 2010, 26 (13): 308-311.
- LIU Y F, LIU L, DUAN Y X, et al. Effects of sunlight on red color formation in the flesh of red-fleshed peach (*Prunus persica* L.) [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26 (13): 308-311. (in Chinese)
- [30] 邵婉璐, 李月灵, 高松, 等. 光照强度对成熟红颜草莓果实着色和花

- 青素生物合成的影响及可能的分子机制 [J]. 植物研究, 2018, 38 (5): 661–668.
- SHAO W L, LI Y L, GAO S, et al. Effects of light intensity on the fruit coloration and anthocyanin biosynthesis in *Fragaria* × *ananas* duch. ‘benihoppe’ and the possible molecular mechanism [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2018, 38 (5): 661–668. (in Chinese)
- [31] 潘少霖, 林炎娟, 方智振, 等. 光照对芙蓉李果肉花色苷积累的影响 [J]. 中国南方果树, 2018, 47 (4): 126–128, 131.
- PAN S L, LIN Y J, FANG Z Z, et al. Effect of light on the accumulation of anthocyanin in pulp of plum [J]. *South China Fruits*, 2018, 47 (4): 126–128, 131. (in Chinese)
- [32] 李玉阔, 齐秀娟, 林苗苗, 等. 套袋对2种类型红肉猕猴桃果实着色的影响 [J]. 果树学报, 2016, 33 (12): 1492–1501.
- LI Y K, QI X J, LIN M M, et al. Effect of bagging on fruit pigmentation in two types of red-fleshed kiwifruit [J]. *Journal of Fruit Science*, 2016, 33 (12): 1492–1501. (in Chinese)
- [33] 杨刚. 红阳猕猴桃果实色素变化规律和影响因素的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- YANG G. *Studies on variation of the fruit pigments and its affecting factors in the ‘Red-Sun’ kiwifruit* [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [34] 陈成, 王依, 宋思言, 等. 套袋对海沃德猕猴桃果实品质及叶绿素代谢的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2022, 50 (7): 138–146.
- CHEN C, WANG Y, SONG S Y, et al. Effect of bagging on fruit quality and chlorophyll metabolism of Hayward kiwifruit [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2022, 50 (7): 138–146. (in Chinese)

(责任编辑：黄爱萍)