



陈璐,高柱,毛积鹏,等.不同温度处理采后猕猴桃果实淀粉降解的转录组分析[J].江西农业大学学报,2023,45(3): 591-604.

CHEN L,GAO Z,MAO J P,et al.Transcriptome analysis of starch degradation in post-harvest kiwifruit treated at different temperatures[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2023,45(3):591-604.

不同温度处理采后猕猴桃果实淀粉降解的 转录组分析

陈璐^{1,2,3},高柱^{1,2},毛积鹏¹,张小丽^{1,2},卢玉鹏¹,
林孟飞¹,公旭晨¹,王小玲^{1*}

(1.江西省科学院 生物资源研究所/江西省猕猴桃工程研究中心,江西 南昌 330096;2.井冈山生物技术创新研究院/江西省科学院井冈山分院,江西 吉安 343016;3.江西农业大学 林学院,江西 南昌 330045)

摘要:【目的】采后猕猴桃果实软化过程中的温度管理直接影响果实风味品质,影响着消费者对“即食”猕猴桃的接受度。【方法】研究以江西主栽的中华猕猴桃‘金艳’果实为试验材料,以采后果实淀粉降解、向即食型转化为切入点,通过不同温度处理(5,10,20,30℃)研究猕猴桃采后淀粉降解及品质的影响。【结果】(1)处理温度越高,果实硬度和淀粉含量下降越快,果实可溶性固形物含量和腐烂率上升越快;而温度过高则会影响可食品质。低温(5℃)处理果实成熟度和品质受影响最小;10℃维持果实品质、有效降低采后损失,软熟期SSC含量达16.15%;20℃处理果实后熟品质较好,但腐烂率明显高于10℃处理;高温(30℃)下硬度迅速下降,腐烂率高达20.67%,软熟期SSC含量仅为14.28%,果实后熟品质下降。(2)不同温度处理后,通过转录组分析筛选出14个淀粉与蔗糖代谢相关且表达量较高的显著差异基因,通过RT-qPCR验证,转录组数据真实可靠。【结论】不同温度管理对猕猴桃果实软化进程有着不同影响,实验温度内5℃保存可延长贮藏期,*PHS2.1*特异响应5℃表达;10℃处理可提升果实品质,有效降低采后损失,*PHS2*、*BAM3.2*、*BAM3L*响应10℃表达;高温处理果实软化较快,淀粉转化不完全,果实品质较差。

关键词:猕猴桃;温度处理;淀粉降解;果实品质;转录组分析

中图分类号:S663.4 文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:1000-2286(2023)03-0591-14



Transcriptome Analysis of Starch Degradation in Post-harvest Kiwifruit Treated at Different Temperatures

CHEN Lu^{1,2,3},GAO Zhu^{1,2},MAO Jipeng¹,ZHANG Xiaoli^{1,2},LU Yupeng¹,
LIN Mengfei¹,GONG Xuchen¹,WANG Xiaoling^{1*}

(1.Institute of Biological Resources, Jiangxi Academy of Sciences/Jiangxi kiwifruit engineering research center, Nanchang 330096, China; 2.Jinggangshan Institute of Biotechnology/Branch of Jinggangshan, Jiangxi Academy of Sciences, Ji'an, Jiangxi 343016, China; 3.College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

收稿日期:2022-12-22 修回日期:2023-02-26

基金项目:江西省重点研发计划项目(20212BBF61006)

Project supported by Key R&D Project of Jiangxi Province(20212BBF61006)

作者简介:陈璐,博士生,orcid.org/0000-0003-3367-8537,1468302864@qq.com;*通信作者:王小玲,研究员,博士,主要从事园艺植物高值利用研究,orcid.org/0000-0001-6413-8840,wangxiaoling1979@126.com。

Abstract: [Objective] The temperature management during the softening process of post-harvest kiwifruit directly affects the flavor quality of the fruit and affects consumer acceptance of “ready-to-eat” kiwifruit. [Method] In this study, the *Actinidia chinensis* ‘Jinyan’, which is mainly planted in Jiangxi Province, was used as the experimental material to investigate the starch degradation of post-harvest fruits and conversion to ready-to-eat type under different temperature treatments (5, 10, 20, 30 °C). [Result] (1) The higher the treatment temperature was, the faster the fruit firmness and starch content decreased, and the faster the soluble solid content and decay rate increased; the tooexcessively high temperature affected the quality for ready-to-eat. Low temperature (5 °C) exerted the least effect on fruit ripe and quality. 10 °C treatment maintained fruit quality and effectively reduced post-harvest loss, and SSC content reached 16.15% in the soft ripening stage. 20 °C treatment had better ripening quality, but the rot rate was significantly higher than that 10 °C treatment. With a high temperatures (30 °C), the firmness decreased rapidly, the rot rate was as high as 20.67%, the SSC content was only 14.28% at the soft ripening stage, and the quality of fruit post-ripening decreased. (2) After different temperature treatments, 14 significantly different genes related to sucrose metabolism and high expression were screened by transcriptome analysis. The transcriptome data were verified by RT-qPCR, and the transcriptome data were real and reliable. [Conclusion] Different temperature management had different effects on the post-ripening process of kiwifruit. Storage at 5 °C within the experimental temperature could prolong the storage period, and *PHS2.1* specifically responded to 5 °C expression. 10 °C treatment could improve fruit quality and effectively reduce post-harvest loss, *PHS2*, *BAM3.2* and *BAM3L* were expressed at 10 °C. Under high temperature treatment, the fruit softened rapidly, the starch conversion was incomplete, and the fruit quality was poor.

Keywords: kiwifruit; temperature treatment; starch degradation; fruit quality; transcriptome analysis

【研究意义】猕猴桃(*Actinidia*)果实酸甜可口,风味独特,富含各种维生素、矿物质等营养物质,被誉为“果中之王”^[1]。近十年来,我国猕猴桃产业迅速发展,猕猴桃栽培面积和产量稳居世界第一,持续保持世界猕猴桃产业生产最大国的地位^[2]。猕猴桃属呼吸跃变型果实,果实皮薄汁多,以鲜食为主,货架期短、采后损失高、即食率低等问题限制我国猕猴桃产业的竞争力,民间俗称“到手太硬,七天软,十天烂,半月坏一半”,严重影响消费者对猕猴桃的购买欲望,限制猕猴桃产业的可持续发展。【前人研究进展】贮藏温度是水果收获后保持品质和延长保质期的关键因素。贮藏温度对果实成熟率有较大影响,猕猴桃采后果实贮藏处理温度越高,果实达到即食状态的时间越短^[3-4];低温储存可减少大多数细胞代谢活动,并抑制微生物生长和延缓腐败,从而减缓与成熟和衰老相关的变化并延长采后贮藏期^[5-6]。消费者更喜欢购买接近完全成熟阶段的“即食”猕猴桃。因此,猕猴桃贮藏和成熟过程中的温度管理与风味品质属性直接相关,并影响消费者对“即食”猕猴桃的接受程度。【本研究切入点】猕猴桃为淀粉积累型果实,果实生长发育阶段积累淀粉,淀粉含量可占果实干物质的50%,在采收时只有少量转化为可溶性糖;采后淀粉由积累转为分解,可溶性糖迅速增加。糖分是猕猴桃果实的重要风味物质与关键品质指标,采后果实成熟过程中糖含量积累受淀粉转化和蔗糖代谢调节^[7]。淀粉从积累到分解的转变在一定程度上取决于环境温度,但淀粉分解所需的精确温度或需冷量尚不明确^[8],因此,更好地掌握温度对猕猴桃采后淀粉降解与软熟进程的影响对提高果实商品性具有重要意义。关于猕猴桃果实淀粉降解相关酶基因的研究在生长发育过程^[9-11]较多,采后成熟过程淀粉降解研究大多集中在乙烯处理采后果实^[12-14],温度处理调控采后果实淀粉降解、促进果实软熟的研究鲜有报道。【拟解决的关键问题】因此,本研究以江西主栽的中华猕猴桃‘金艳’果实为试验材料,研究不同温度处理下研究猕猴桃果实采后硬度、可溶性固形物、淀粉含量、腐烂率等生理指标的变化规律,通过转录组分析,挖掘淀粉代谢响应温度的相关基因,结合其生理指标进行相关性分析,利用RT-qPCR进一步验证、明确关键候选基因,以期筛选出促进猕猴桃果实采后淀粉降解与后熟软化的适宜温度及淀粉降解响应温度的关键候选基因,以优化猕猴桃采后即食处理温度,提高果实商品性与风味品质,为猕猴桃采后绿色生产与品质调控提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与处理

试验果实采自江西省奉新县“江西省科学院猕猴桃产业基地”。于生理成熟期(SSC为8.0%左右)采收,果实散去田间热后,挑选无机械损伤、无病虫害、成熟度与大小一致的健康猕猴桃果实,用厚度为0.03 mm的PE保鲜袋进行单果套袋,装入带有托盘的包装盒中,并对处理果实进行编号,放入5,10,20,30℃的培养箱中进行恒温处理。5,10,20℃处理每2 d取样1次^[15],30℃处理每1 d取样1次。每次随机取30~45个果实,随机分成3组,作为3次生物学重复,测定其硬度与可溶性固形物含量。硬度通过艾普数显式水果硬度计(GY-4)测量,在每个果实赤道部位削去2 mm的果皮后,以10 mm的穿透深度测量硬度。SSC通过ATAGO数显式手持折光仪(PAL-1)测量。测定后将剩余果实样品液氮速冻,-80℃保存待用。每次取样前,用无损检测仪器对每个果实进行检测,剔除异常值对应的果实,同时统计果实腐烂率。

1.2 转录组测序与质控

将处理0 d,4 d与软熟期(硬度约为1.0 kg/cm²)的果实样品送美吉生物测序,样品编号分别为:5℃处理样品(a0,a5_4d,a5_R),10℃处理样品(a0,a10_4d,a10_R),20℃处理样品(a0,a20_4d,a20_R)与30℃处理样品(a0,a30_4d,a30_R),设置3个生物学重复,共27个样品。基于Illumina Novaseq 6000测序平台,对送测序样品的所有mRNA进行测序,采用Illumina TruseqTM RNA sample prep Kit方法进行文库构建。测序数据以‘红阳’猕猴桃基因组为参考基因组进行比对、注释。对转录组测序产生的原始数据进行质量监控,经过滤后得到高质量的Clean Reads,利用Trinity软件对得到的Clean Reads进行拼接组装。

1.3 差异表达分析与功能富集

使用软件RSEM分别对基因和转录本的表达水平进行定量分析,以便后续分析不同样本间基因/转录本的差异表达情况,并可结合序列功能信息,揭示基因的调控机制。某个基因的reads总数不能准确地表示这个基因的表达情况,因此采用TPM(Transcripts Per Million reads)算法计算基因的表达量^[16]。根据各基因的表达量,使用edgeR和Deseq2软件分析两种处理之间的差异表达基因,设定阈值为|log₂FC|>1且P≤0.05。采用软件Goatools对基因集的基因进行GO富集分析,采用R语言对基因集中的基因进行KEGG富集分析。

1.4 RT-qPCR验证分析

为验证转录组测序结果的可靠性,选择蔗糖与淀粉代谢途径的14个候选基因进行RT-qPCR验证分析。通过Primer Premier 5.0设计实时荧光定量PCR的特异性引物,以猕猴桃Actin为内参基因(表1)。所有引物均由生工合成。

表1 RT-qPCR特异性引物序列
Tab.1 Real-time PCR-specific primer sequences

基因 Genes	上游引物5'→3' Upstream primers(5'-3')	下游引物5'→3' Downstream primers(5'-3')	退火温度/℃ Annealing temperature	产物长度/bp Length
AMY3	GTGACTCTAGAGCCGCTTCG	GTCTCCACCACGGCTGTATC	60.2	194
SPP1	GCAGCAGGCATCATACAAGC	TCAGTCCGGCCAAATAGAGC	59.9	193
SPS1	TGACTACGAGGGCTTGCTTG	TCAGCTGCCTGGACAATGTT	60.0	150
SPS2	ATGGTTGTAATGCCCCCTGG	GCAAGTATCATCGGCTTGCG	60.0	167
EG1	CACACCAGCTCCTGGTTCAT	CAGACTTTGTGAGCCCCCAT	60.0	191
BAM3.1	GCTCGCCAGAAGGGTTAGTT	GCACTCAATCCGTTCCCAGA	60.0	154
PHS2	ATTCCCCACTAAGGTTGCCG	GCCTCAGGCAGGACAGTATG	60.0	165
WAKY	GAATCGGACAGGGTCCTCAC	GTGGATGGGTCCCCTCTTG	60.1	152
SPP2	TTTAACCTTGGCCCGAGCAT	TCAGTCCGGCCAAATAGAGC	60.0	163
SUS1	AAGAACTCGTGATGGACCG	GGGTGCATGCTTTCCTTGTC	59.9	172
AMY1	CCGTTCCCATCGGACAAAGT	TTGCTTGTGCGACCGATACT	60.2	161
BAM3.2	CGCTGGAGAAAACGTGTTGG	ACTGGCTCATGTTCTCACG	60.0	179
BAM3L	GTGCAAAAGCATGGCCTGAA	GGCCCCATCTGTCTGTGTAG	59.9	151
PHS2.1	CCTCGGTTTGAAGAGGCCAA	GCCTCGTCTACTCTTGCTG	60.2	173
Actin	GTGCTCAGTGGTGTTCAA	GACGCTGTATTTCCTCTCAG	60.0	126

1.5 数据分析

使用Excel 2010和SPSS Statistic 20.0软件对数据进行统计分析及相关性。

2 结果与分析

2.1 温度对果实硬度、可溶性固形物含量及腐烂率的影响

硬度是衡量猕猴桃果实成熟度的重要指标之一,它在很大程度上决定了消费者的接受程度和猕猴桃的耐贮性。如图1A所示,随着处理温度的升高和处理时间的增加,果实硬度持续降低。在0 d时果实硬度为 5.82 kg/cm^2 。当果实硬度降至约 1.0 kg/cm^2 时,30℃需要5 d,20℃和10℃分别需要8 d和18 d,5℃则需要20 d以上。随着温度的升高,果实硬度的下降速率更为明显;在20℃和30℃下,果实硬度迅速下降;10℃下,果实硬度下降速率由快转慢;而5℃下,直到处理后14 d,果实仍保持较高硬度。与5℃相比,10℃、20℃和30℃的果实硬度在4 d显著降低,软化速率随着温度的升高而加快。

可溶性固形物含量的变化可归因于淀粉转化为糖的反应过程。如图1B所示,可溶性固形物含量的变化和硬度的变化呈相反的趋势。在不同温度处理下,果实中可溶性固形物含量呈S形增加趋势。温度越高,可溶性固形物含量上升越快。处理4 d时,20℃和30℃下果实可溶性固形物含量分别为13.71%和14.00%,显著高于5℃(11.53%)和10℃(12.36%)($P\leq 0.05$,下同)。当果实硬度约为 1.0 kg/cm^2 时,5℃时果实可溶性固形物含量最低。在10℃、20℃下的可溶性固形物含量较高(均高于16.00%),显著高于5℃与30℃处理。因此,超高温(30℃)极大地促进了果实的软化,但淀粉不能完全转化,果实品质下降;高温处理(20℃)可以加速果实的软化和可溶性固形物含量的积累,中间温度(10℃)则是一个果实硬度和品质稳定变化的温度,而低温处理(5℃)延缓了果实的软熟进程,延长了果实的贮藏和货架时间。

猕猴桃为淀粉积累型果实,淀粉糖代谢与其品质变化紧密相关,果实软熟过程中淀粉降解,可溶性糖含量不断增加;果实软熟后,淀粉几乎均转化为可溶性糖,为最佳可食状态。不同温度处理下,果实淀粉含量降低速率呈由慢到快的变化过程;处理温度越高,淀粉变化速率越快。当果实硬度越接近 1.0 kg/cm^2 时,淀粉降解速率加快,淀粉含量下降越快。5℃可以显著减缓猕猴桃淀粉的降解,维持果实的硬度;当温度高于20℃时,淀粉含量急剧下降;10℃处理4 d后淀粉降解速率加快(图1C)。

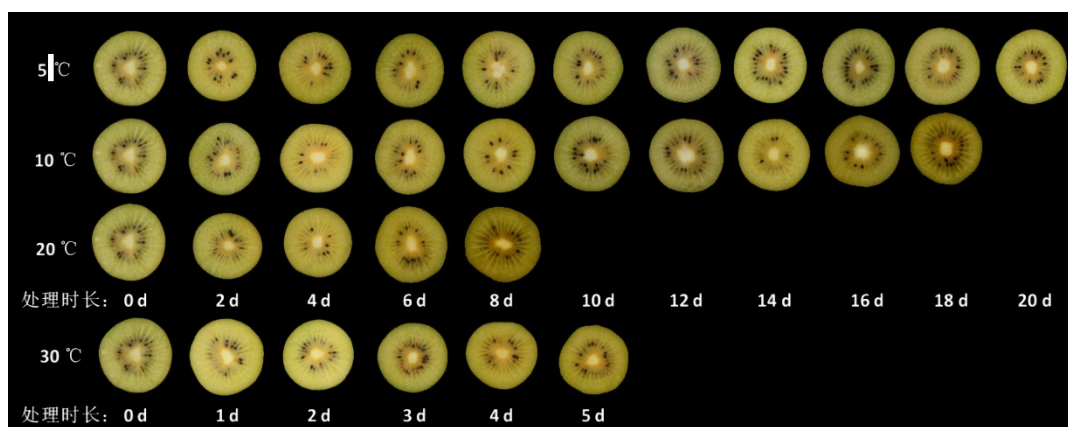


图1 温度处理采收‘金艳’猕猴桃果实截面

Fig.1 Cross-sectional view of ‘Jinyan’ kiwifruit after temperature treatment

处理期间果实腐烂率统计结果表明(图1D):不同温度处理的果实腐烂率大致呈现“温度越高、腐烂率越高”的趋势,随着处理时间的延长,果实腐烂率明显提高。在果实硬度下降至 1.0 kg/cm^2 时,高温处理(30℃)果实腐烂率高达20.67%,果实商品率较低;而低温处理(5℃)腐烂率维持在5%以下,但果实品质下降;高温加速软化的过程中同时也极大地促进了果实腐烂的发生,这也说明猕猴桃果实软化并非温度越高促进效果越好。

综合果实硬度、可溶性固形物含量及腐烂率的表现结果(图2)显示,高温可刺激果实快速软化,但果

实可食品质不能得到保证,同时也促进了果实腐烂的发生;低温果实硬度下降较慢,适合较长时间贮藏;10℃温度是一个果实硬度和品质稳定变化的温度,果实后熟软化过程中淀粉得到有效降解,‘即食’品质提升,果实损失较少。

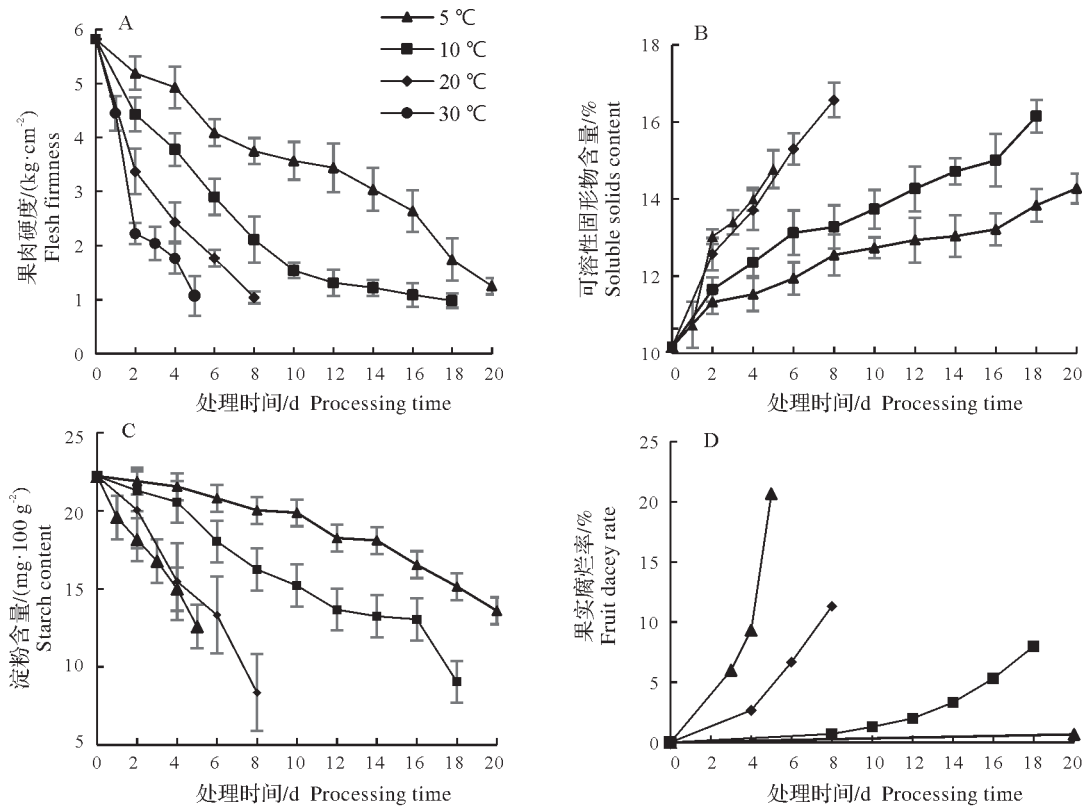


图2 温度处理采后‘金艳’猕猴桃果实硬度(A)、可溶性固形物(B)、淀粉含量(C)及果实腐烂率(D)情况
Fig.2 Fruit hardness(A), soluble solids(B), starch content(C), and decay rate(D) of post-harvest
‘Jinyan’ kiwifruit treated at different temperatures

2.2 不同温度处理采后‘金艳’猕猴桃的转录组测序结果分析

2.2.1 转录组测序质控与组装 为了从分子水平探究温度对猕猴桃果实后熟软化的影响,对5,10,20,30℃处理的0 d,4 d与软熟期果实样品进行高通量转录组测序分析。27个样品的转录组测序获得212.16 Gb原始读长(表2),测序数据经低质量过滤、接头过滤和去N过滤、质量监控后,最终得到194.72 Gb高质量的Clean Data,各样品Clean Data均达到6.21 Gb以上,Q20与Q30碱基百分比分别在96.50%与91.13%以上,GC含量在46.23%~47.61%,测序质量满足后续组装要求。

与参考基因组比对,获得用于后续转录本组装、表达量计算的mapped data(reads),同时对转录组测序的比对结果进行质量评估。将各样品的Clean reads与参考基因组进行序列比对,比对率从77.94%到87.98%不等,评价测序结果和所选的参考基因组都能满足后续生物信息分析的需求(表3)。由图3可知,测序总基因转录本共73 215个,基因全长主要集中在601~2 100 bp,占测序基因数的61.63%,其中8 215个基因分布在601~900 bp,901~1 200 bp有9 789个,1 201~1 500 bp有10 103个,1 501~1 800 bp有9 357个,1 801~2 100 bp有7 657个。

2.2.2 功能注释 检测到表达基因37 790个,其中已知基因31 671个,新基因6 119个;表达转录本共71 028个,其中已知转录本31 428个,新转录本39 600个。将组装的基因序列在六大数据库(GO、KEGG、COG、NR、Swiss-Prot、Pfam(E value≤10⁻⁵))中进行比对。六大数据库中共注释了31 668个基因,注释率为99.99%,其中GO、KEGG、COG、NR、Swiss-Prot、Pfam数据库中分别注释了27 772个表达基因的表达基因个数分别为27 772(87.69%)、14 092(44.49%)、30343(95.81%)、31 668(99.99%)、26 614(84.03%)、27 605(87.16%)。13 196个表达基因同时在6大数据库中得到注释(图4)。

表2 质控数据统计表
Tab.2 Statistical table of quality control data

样本 Sample	原始读长 Raw reads	原始碱基数 Raw bases	错误率/% Error rate	Q20/%	Q30/%	GC 含量/% GC content
a0d_1	46809398	7068219098	0.030 7	95.34	89.9	46.66
a0d_2	52410004	7913910604	0.030 7	95.38	89.84	47.08
a0d_3	56448572	8523734372	0.031 1	95.16	89.61	47.15
a5_4d_1	55566664	8390566264	0.031 8	94.85	89.13	47.2
a5_4d_2	51932746	7841844646	0.029 8	95.71	90.47	46.81
a5_4d_3	51123576	7719659976	0.030 9	95.29	89.7	46.91
a5_R_1	55336354	8355789454	0.031 6	95.01	89.17	47.29
a5_R_2	47052300	7104897300	0.030 4	95.4	90.1	46.87
a5_R_3	53138682	8023940982	0.030 6	95.42	89.92	47.11
a10_4d_1	53839390	8129747890	0.03	95.66	90.35	47.14
a10_4d_2	44539740	6725500740	0.030 6	95.38	89.95	46.8
a10_4d_3	55273074	8346234174	0.030 9	95.25	89.74	47.58
a10_R_1	52873598	7983913298	0.030 6	95.43	89.9	47.63
a10_R_2	57164824	8631888424	0.031 1	95.22	89.53	47.54
a10_R_3	60931278	9200622978	0.030 3	95.54	90.12	47.46
a20_4d_1	44823288	6768316488	0.030 9	95.25	89.74	47.37
a20_4d_2	52861346	7982063246	0.030 8	95.31	89.78	47.75
a20_4d_3	49822970	7523268470	0.030 2	95.59	90.16	47.85
a20_R_1	54104450	8169771950	0.030 3	95.57	90.03	47.76
a20_R_2	52219252	7885107052	0.030 8	95.3	89.72	47.83
a20_R_3	52129198	7871508898	0.030 8	95.3	89.78	47.93
a30_4d_1	48058544	7256840144	0.031 1	95.19	89.51	47.4
a30_4d_2	48116706	7265622606	0.031	95.23	89.6	47.37
a30_4d_3	46908888	7083242088	0.031 8	94.9	89.1	47.91
a30_R_1	53228538	8037509238	0.030 7	95.34	89.81	47.47
a30_R_2	58756742	8872268042	0.031 5	95.04	89.21	47.31
a30_R_3	49573784	7485641384	0.031 7	94.96	89.15	47.46

共有 27 772 个基因注释到 GO 数据库的 52 个功能组别中,主要富集 GO 条目为“代谢功能”和“细胞过程”。在代谢功能的 GO 条目中,注释到“结合”功能组别的基因最多(14 639),其次为“催化活性”(14 229);细胞过程中,有 13 755 个基因注释到了“细胞组分”、10 641 个基因注释到了“膜组分”(图 5)。14 092 个基因富集到 KEGG 数据库 132 条代谢通路中,其中富集程度最高的是“核糖体”途径(474),其次为“植物信号激素转导”途径(374 个基因)、“植物与病原菌的相互作用”途径富集了 357 个基因(图 6)。通过 KOG 分类得出共有 28 919 个基因具有明显的序列相似性,这 28 919 个基因被富集了 COG 的 23 个功能类别中。其中“未知功能类别”为主要类别,占到了注释基因的 62.80%(18 161)，“蛋白质折叠与分子伴侣”“信号转导机制”“翻译”“核糖体结构和生物合成”这 4 个类别为主要类别,分别有 6 894、5 279、3 996 与 3 164 个基因,共 19 333 个基因。最少的类别为“核结构”,只有 2 个基因富集到这一类别。

表3 参考比对统计
Tab.3 Reference comparison statistical

样本 Sample	总读长 Total reads	总比对率 Total mapped	多重比对率 Multiple mapped	唯一比对率 Uniquely mapped
a0d_1	44737030	38557035(86.19%)	1800027(4.02%)	36757008(82.16%)
a0d_2	50142628	43576386(86.9%)	2282394(4.55%)	41293992(82.35%)
a0d_3	54110508	45446804(83.99%)	2106917(3.89%)	43339887(80.1%)
a5_4d_1	52933194	44089017(83.29%)	1974134(3.73%)	42114883(79.56%)
a5_4d_2	49899984	42217413(84.6%)	2089483(4.19%)	40127930(80.42%)
a5_4d_3	48872976	42086242(86.11%)	1902811(3.89%)	40183431(82.22%)
a5_R_1	52863798	45451917(85.98%)	2129567(4.03%)	43322350(81.95%)
a5_R_2	44643488	38223062(85.62%)	2767804(6.2%)	35455258(79.42%)
a5_R_3	51022666	43665113(85.58%)	2061667(4.04%)	41603446(81.54%)
a10_4d_1	51825766	43856264(84.62%)	1897644(3.66%)	41958620(80.96%)
a10_4d_2	42465352	36029067(84.84%)	1643450(3.87%)	34385617(80.97%)
a10_4d_3	52892600	45107882(85.28%)	2129367(4.03%)	42978515(81.26%)
a10_R_1	50880550	44378924(87.22%)	2084230(4.1%)	42294694(83.13%)
a10_R_2	54755922	46282368(84.52%)	2093290(3.82%)	44189078(80.7%)
a10_R_3	58575140	45655563(77.94%)	2096168(3.58%)	43559395(74.36%)
a20_4d_1	42690106	36897422(86.43%)	1602187(3.75%)	35295235(82.68%)
a20_4d_2	50505710	43430431(85.99%)	2101856(4.16%)	41328575(81.83%)
a20_4d_3	48001176	42230550(87.98%)	1897063(3.95%)	40333487(84.03%)
a20_R_1	52239310	44453040(85.09%)	2109613(4.04%)	42343427(81.06%)
a20_R_2	50052714	42118897(84.15%)	1976616(3.95%)	40142281(80.2%)
a20_R_3	49819072	43308278(86.93%)	1875292(3.76%)	41432986(83.17%)
a30_4d_1	45931940	40052495(87.2%)	1650902(3.59%)	38401593(83.61%)
a30_4d_2	45958158	39800324(86.6%)	1794572(3.9%)	38005752(82.7%)
a30_4d_3	44489796	36806011(82.73%)	1672824(3.76%)	35133187(78.97%)
a30_R_1	51017822	42374035(83.06%)	1841340(3.61%)	40532695(79.45%)
a30_R_2	56127578	45763605(81.53%)	2182283(3.89%)	43581322(77.65%)
a30_R_3	47200426	39270275(83.2%)	1770152(3.75%)	37500123(79.45%)

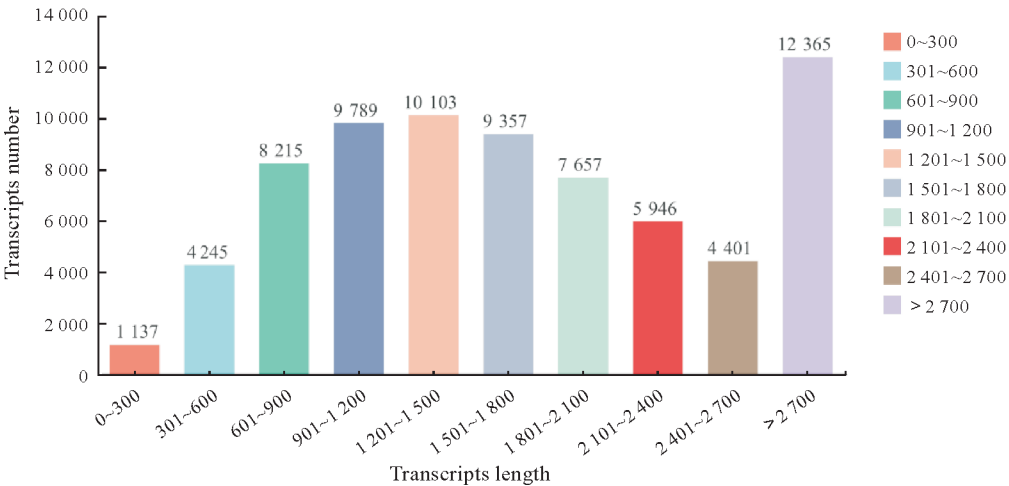


图3 转录组测序基因长度分布
Fig.3 Gene length distribution of transcriptome sequencing

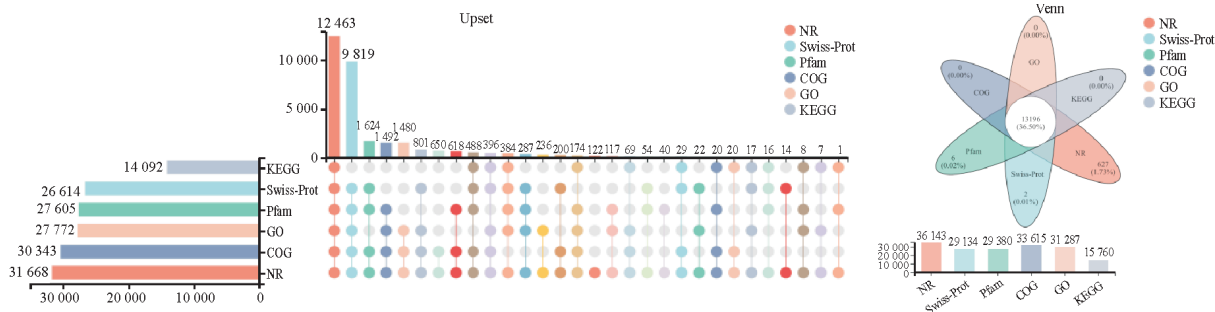


图 4 六大数据库中注释情况
Fig.4 The annotations in the six databases

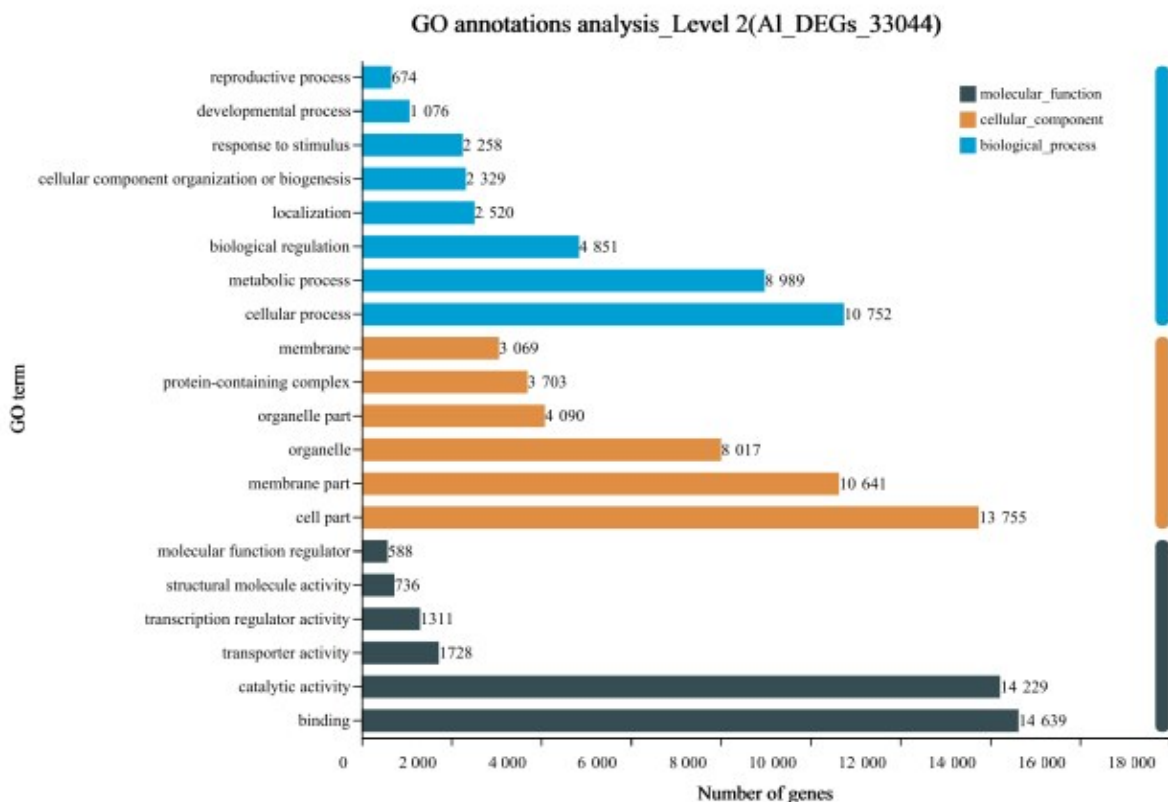


图 5 注释基因 GO 富集分析
Fig.5 GO enrichment analysis of annotated genes

2.2.3 表达量差异分析 9个样本组中表达基因的平均数量为22 822个(图7)。a5_4d的处理表达基因最多(24 090个表达基因),其中有178个基因5℃处理中特异表达。a20_R处理的表达基因最少(20 046个),其中特异表达基因有203个。利用FDR与 $\log_2FC$ 来筛选差异基因,筛选条件为 $FDR < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 1$ 。在9个样本组基因表达量的两两比较中(图8),大部分比较组别中下调的差异表达基因数量多于上调表达,仅在a5_4d_vs_a30_4d、a10_4d_vs_a30_4d、a10_4d_vs_a10_R与a20_R_vs_a30_R这4个组别中上调表达的基因数量高于下调表达。

2.3 猕猴桃采后果实淀粉与蔗糖代谢相关基因的分析

基于基因功能注释和KEGG富集分析,重点关注的淀粉与蔗糖代谢途径富集了145个基因,其中105个基因显著差异表达。将这105个基因建立基因集,绘制其不同处理中表达水平的相关聚类热图(图9)。在9个样品组两两组别比较之间的显著差异表达基因集中,结合表达量聚类热图分析结果,筛选出14个淀粉与蔗糖代谢相关且表达量较高的显著差异基因:AMY1(*Acc06307*, α -淀粉酶),AMY3(*Acc23738*, α -淀粉酶),BAM3.1(*Acc15874*, β -淀粉酶),BAM3.2(*Acc28118*, β -淀粉酶),BAM3L(*Acc28966*,

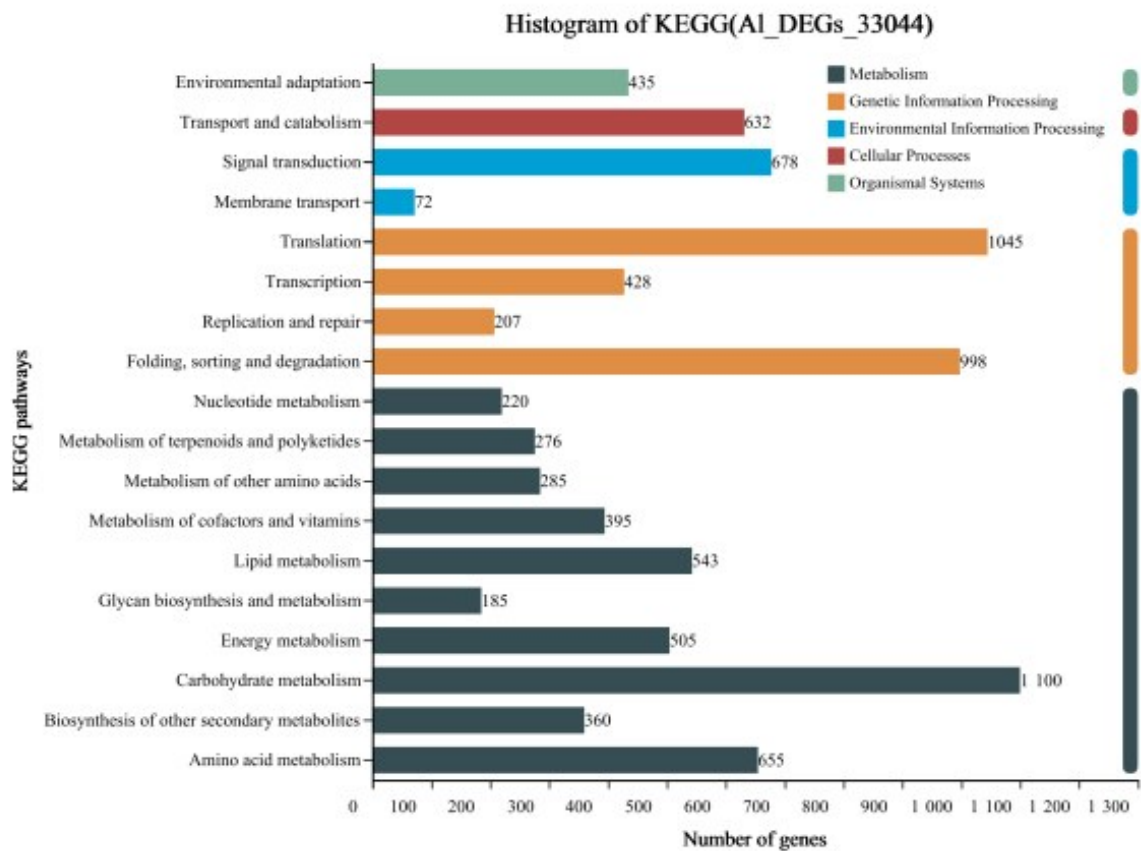


图6 注释基因KEGG富集分析
Fig.6 KEGG enrichment analysis of annotated genes

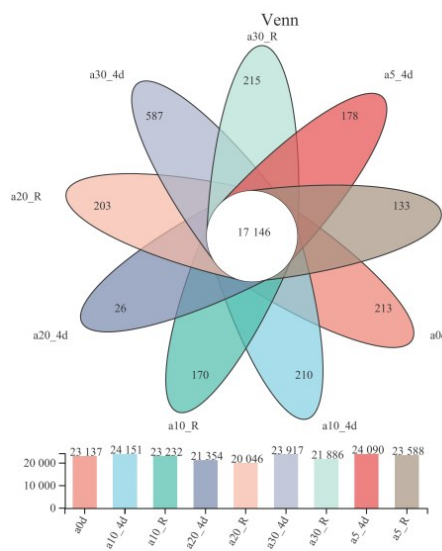


图7 样本组中表达基因统计
Fig.7 Gene expression statistics in sample group

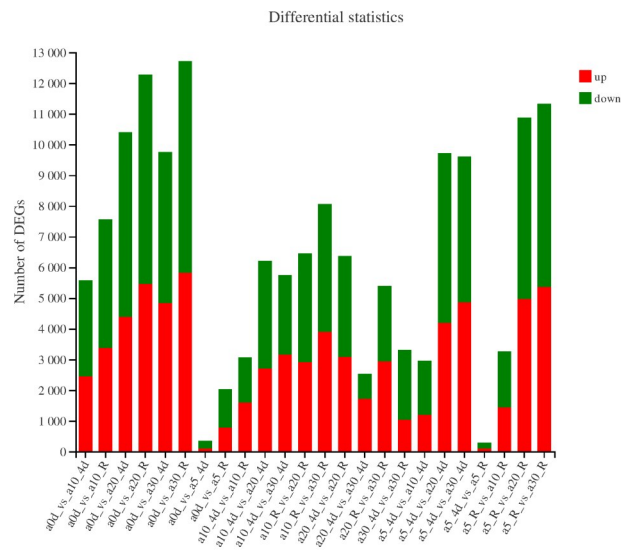


图8 样本组中基因表达量比较
Fig.8 Gene expression comparison in sample group

β -淀粉酶), *PHS2* (*Acc16485*, α -葡聚糖磷酸化酶), *PHS2.1* (*Acc31818*, α -葡聚糖磷酸化酶), *SPP1* (*Acc13330*, 蔗糖磷酸酶), *SPP2* (*Acc23001*, 蔗糖磷酸合酶), *SUS1* (*Acc23417*, 蔗糖合酶), *EG1* (*Acc15590*, 内切葡聚糖酶), *WAXY* (*Acc20351*, 颗粒结合型淀粉合成酶), *SPS1* (*Acc14494*, 蔗糖磷酸合酶), *SPS2* (*Acc14495*, 蔗糖磷酸合酶)。同时共筛选到 323 个转录因子, 含有 *ERF* (44 个)、*bHLH* (37 个)、*WRKY* (29 个)、*MYB* (13 个)、*bZIP* (11 个)、*GATA* (19 个) 和 *NAC* (7 个) 等转录因子, 其中有 99 个转录因子的表达量在不同比较组中存在显著差异且高表达, 主要包括 *ERF*、*NAC*、*bHLH*、*bZIP* 和 *WRKY*。

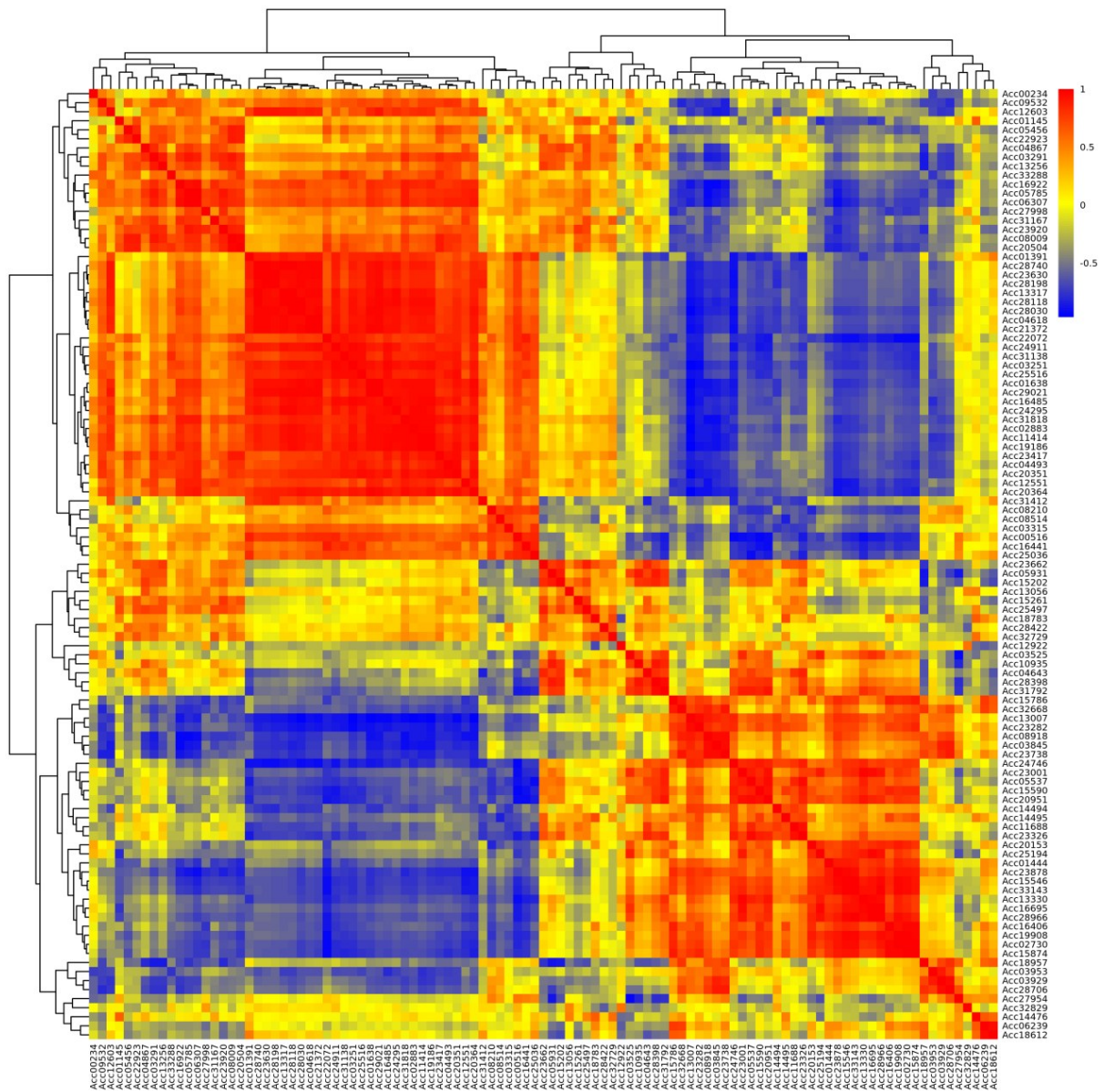


图9 淀粉与蔗糖代谢途径 105 个差异表达基因表达量聚类热图

Fig.9 Clustering heat map of 105 differentially expressed genes in starch and sucrose metabolic pathways

2.4 RT-qPCR 验证及关键候选基因挖掘

以猕猴桃 *Actin* 为内参基因,利用 RT-qPCR 检测分析 14 个淀粉蔗糖代谢的候选基因在‘金艳’猕猴桃采后果实中不同温度处理的 0 d、4 d 与软熟期的相对表达量情况。RT-qPCR 熔解曲线均为单一峰型、扩增曲线为“S”型曲线,说明 14 个候选基因的引物特异性较好、扩增效率较好,满足 RT-qPCR 的实验分析要求。将 14 个候选基因在的 RT-qPCR 检测的相对表达量变化与转录组测序分析的表达量变化进行比较(图 10),两者的变化趋势基本一致;皮尔森相关性分析结果显示转录组测序表达量与 RT-qPCR 的相对表达量变化呈极显著正相关,相关系数达 0.617,说明转录组测序结果可靠性较高。

根据 14 个候选基因的表达水平分析,*AMY3*、*BAM3.2*、*SUS1*、*PHS2*、*PHS2.1*、*WAKY* 在软化前期表达水平较高,表达显著上调;而 *AMY1*、*BAM3.1*、*BAM3L*、*EGI*、*SPS1*、*SPP1*、*SPP2* 在软熟期表达水平显著上调。*PHS2*、*SUS1*、*BAM3.2*、*PHS2.1* 在 5 °C、10 °C 处理下表达量明显高于其他两个处理,同时 10 °C 处理的表达量也明显高于 5 °C 处理;而 *PHS2.1* 而在 10 °C 处理明显低于 5 °C 处理,推测 *PHS2.1* 是特异响应 5 °C 的表达基因。*PHS2*、*BAM3.2*、*PHS2.1* 在 10 °C 处理前期表达上调、软熟期表达下调或几乎不表达,而 *BAM3L* 在 10 °C 处理软熟期极显著上调、表达量极显著高于其他处理,推测这几个基因可能是淀粉降解特异响应 10 °C 的表达基因。*SPS2* 在 30 °C 处理中表达水平显著高于其他处理,而 *WAKY* 表达量明显低于其他处

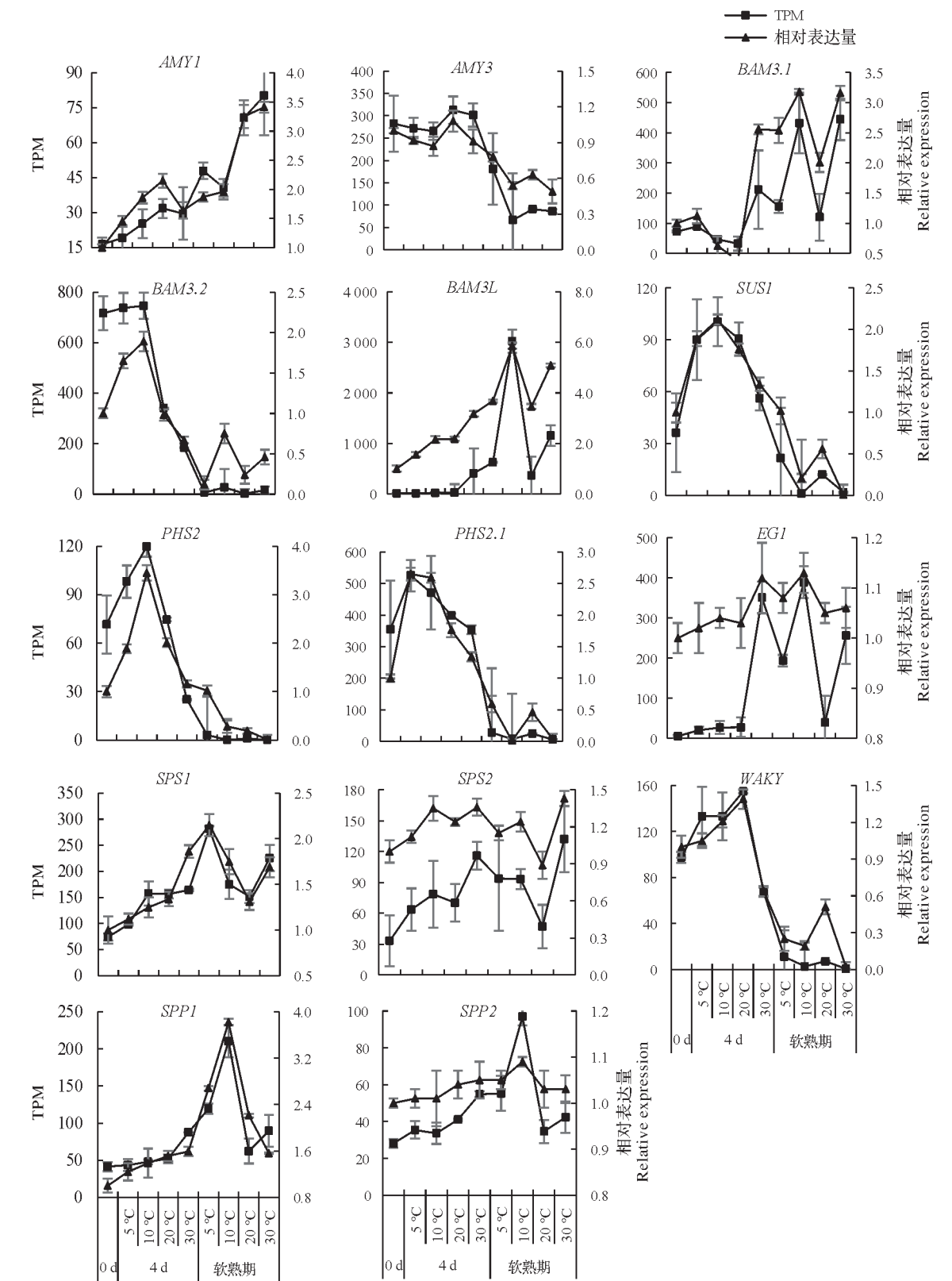


图 10 淀粉与蔗糖代谢途径候选基因表达分析

Fig.10 Expression analysis of candidate genes in starch and sucrose metabolic pathways

理,推测 *SPS2*、*WAKY*可能是特异响应 30 °C 的表达基因。结合前期生理指标的相关分析(表 4),*AMY3*、*PHS2*、*WAKY*、*BAM3.2*、*PHS2.1* 的表达水平与可溶性固形物含量呈显著负相关,与淀粉含量、果实硬度呈显著正相关;*AMY1* 与可溶性固形物含量呈显著正相关,与淀粉含量、硬度呈负相关,说明这几个基因可能是调控淀粉降解的关键候选基因。

表4 温度处理果实品质与参与淀粉与蔗糖代谢途径候选基因的相关性分析
Tab.4 Correlation analysis between fruit quality and candidate genes involved in starch and sucrose metabolism pathway under temperature treatment

果实品质 Fruit quality	AMY1	AMY3	BAM3.1	BAM3.2	BAM3L	SUS1	PHS2
可固形物 Soluble solids content	0.758*	-0.758*	0.564	-0.899**	0.61	-0.599	-0.786*
硬度 Firmness	-0.768*	0.668*	-0.606	0.950**	-0.565	0.587	0.821**
淀粉 Starch content	-0.769*	0.788*	-0.599	0.940**	-0.644	0.714*	0.868**
	PHS2.1	EG1	SPS1	SPS2	WAKY	SPP1	SPP2
可固形物 Soluble solids content	-0.780*	0.553	0.577	0.408	-0.725*	0.62	0.568
硬度 Firmness	0.785*	-0.659	-0.771*	-0.617	0.734*	-0.624	-0.567
淀粉 Starch content	0.853**	-0.571	-0.558	-0.358	0.791*	-0.653	-0.585

3 讨 论

采后贮藏温度会显著影响果实品质的变化,本研究针对不同温度处理(5, 10, 20, 30 °C)对‘金艳’猕猴桃采后品质及淀粉代谢的影响,通过不同时期果实硬度、可溶性固形物和淀粉含量等指标比较分析,果实硬度变化与可溶性固形物含量变化呈极显著负相关,表明果实软化进程与糖的积累时空伴随发生。通过温度诱导处理后,猕猴桃采后果实淀粉逐渐降解,可溶性糖增加,果实硬度下降,果实逐渐向即食状态转化^[17-18]。与大部分研究结果相似^[19-21],不同温度处理过程中猕猴桃果实硬度、淀粉含量持续降低,而可溶性固形物含量则持续升高;温度越高果实硬度下降越快,软化进程加速,但高温可能会引发果实生理紊乱,导致不能正常后熟、影响其可食品质,表明猕猴桃贮藏和成熟过程中的温度管理与品质属性直接相关,并影响消费者对“即食”猕猴桃的接受程度。在本研究中中华猕猴桃‘金艳’果实5 °C下贮藏下,其成熟度和品质受影响最小;但在20 °C与30 °C下硬度迅速下降,腐烂率提高,果实中淀粉不能完全转化,果实品质下降甚至失去商品价值;10 °C是一个果实硬度和品质稳定变化的温度,本研究结果与杨丹等^[22]研究结果较为吻合,说明适当提高贮藏温度可以有效促进猕猴桃后熟进程。同时值得关注的是当果实硬度为4.0 kg/cm²时,10 °C处理可刺激果实快速进入软化阶段,淀粉转化效率大大提高,有效控制了果实腐烂的发生。

采后淀粉降解不仅影响果实软化,还影响着果实风味品质^[23]。淀粉作为果实细胞内含物质能够维持细胞膨压,从而对细胞壁起支撑作用。成熟果实积累的淀粉进一步分解为可溶性糖,破坏细胞内形成淀粉与糖之间的动态平衡,淀粉降解后引起细胞张力下降,从而导致果实软化^[24]。因此,果实淀粉代谢在后熟软化过程中发挥重要作用。淀粉降解途径主要有两条,一条是通过淀粉酶(AMY、BAM)催化水解为葡萄糖,葡萄糖在异构酶催化下转化成果糖,通过蔗糖磷酸酶(SPP)将生成的果糖和葡萄糖合成蔗糖,蔗糖在转化酶催化分解为果糖和葡萄糖^[25];另外一条途径是以淀粉粒表面发生的可逆的葡聚糖磷酸化为起点,PHS作用在直链淀粉的非还原端开始逐个切割淀粉链上的 α -1,4-糖苷键,产生葡萄糖-1-磷酸^[26]。

本研究通过对不同温度处理的0 d、4 d与软熟期‘金艳’猕猴桃采后果实样品进行转录组分析,在淀粉与蔗糖代谢途径中筛选了14个高表达且差异表达的基因。关于猕猴桃采后果实成熟过程中淀粉降解后可溶性糖增加、果实品质提升的研究很多, α -淀粉酶与 β -淀粉酶是淀粉降解普遍关注的两种酶^[27-28]。转录组挖掘了2个 α -淀粉酶基因(AMY1、AMY3)与3个 β -淀粉酶基因(BAM3.1、BAM3.2、BAM3L),AMY3、BAM3.2在软化前期表达水平表达量较高;而AMY1、BAM3.1、BAM3L在软熟期表达显著上调。淀粉含量与BAM3.2表达量变化呈极显著正相关、与AMY3呈显著正相关、与AMY1呈显著负相关;BAM3.2在5 °C和10 °C中显著高表达,BAM3L在10 °C中显著高表达,说明低温有利于通过 β -淀粉酶途径进行淀粉降解,同时减弱了 α -淀粉酶途径,在低温处理‘红阳’猕猴桃成熟软化与淀粉降解的结论相似^[20]。目前关于淀粉磷酸化酶的研究较少,香蕉果实中鉴定出MaPHS1和MaPHS2^[26],而且PHS活性与表达在淀粉形成的不同时期和不同温度调节作用不同,本研究在淀粉磷酸解途径中筛选了2个 α -葡聚糖磷酸化酶(PHS2、PHS2.1),这2个基因在软化前期表达显著上调;淀粉含量与PHS2、PHS2.1表达呈极显著正相关,PHS2、PHS2.1在5 °C和10 °C中显著高表达,说明低温也可以促进淀粉磷酸解途径参与淀粉降解。

蔗糖代谢过程主要受SPP、SUS、SPS的调控,筛选出2个蔗糖磷酸酶基因(SPP1、SPP2)、1个蔗糖合酶基因(SUS1)与2个蔗糖磷酸合成酶基因(SPS1、SPS2),其中SPP1、SPP2、SPS1在软熟期表达水平显著

上调,*SUS1*在软化前期表达量较高;淀粉含量与*SUS1*表达呈显著正相关,该基因在10℃处理前期的表达水平高于其他处理,而软熟期的表达低于其他处理,推测10℃处理前期蔗糖在*SUS*催化作用下生成果糖与UDP-葡萄糖,接近软熟期则是通过胞质中性转化酶催化生成果糖和葡萄糖,两个途径共同促进果实糖的积累^[29]。

内切葡聚糖酶属于纤维素酶的一种,可以催化水解纤维素,*EGI*在软熟期表达水平显著上调,在果实采后成熟软化过程中起重要作用^[30]。*WAKY*在直链淀粉合成中起主要作用,也影响着支链淀粉的结构,*WAKY*在软化前期表达水平较高,软熟期表达量很低;其表达量与淀粉含量、果实硬度呈显著正相关,在维持果实硬度、延缓淀粉降解发挥作用^[31]。

4 结 论

本研究针对温度处理对‘金艳’猕猴桃采后品质及淀粉代谢的影响,在生理水平对不同温度处理果实硬度、可溶性固形物和淀粉等生理生化指标比较分析,低温(5℃)处理其成熟度和品质受影响最小,适合较长时间的贮藏;但在高温(30℃)下硬度迅速下降,腐烂率提高,果实中淀粉不能完全转化,果实品质下降甚至失去商品价值;20℃处理果实软化速率较快,淀粉转化效率尚可,但腐烂率明显高于10℃处理;10℃是果实硬度和品质稳定变化的温度,淀粉得到了较好的转化,有效降低采后损失。在分子水平对温度处理0 d、4 d与软熟期果实样品进行转录组分析,筛选出14个淀粉与蔗糖代谢相关且表达量较高的显著差异基因,通过RT-qPCR验证了转录组数据真实可靠。结合生理指标分析,最终筛选出7个淀粉与蔗糖代谢的关键候选基因,其中*PHS2.1*可能特异响应5℃表达,*PHS2*、*BAM3.2*、*BAM3L*特异响应10℃表达,*SPS2*、*WAKY*可能特异响应30℃表达。下一步在此基础上可探索最佳的出库硬度和处理温度,优化猕猴桃采后即食的处理技术;同时对关键候选基因进行功能验证,为提高采后果实品质和商品性提供理论依据。

致谢:江西省科学院研发计划项目(2021YSBG21019、2020GDRC1)和吉安市指导性科技计划项目(20222-026942)同时对本研究给予了资助,谨致谢意!

参考文献 References:

- [1] 徐小彪,张秋明.中国猕猴桃种质资源的研究与利用[J].植物学通报,2004,20(6):648-655.
XU X B,ZHANG Q M.Researches and utilizations of germplasm resources of kiwifruit in China[J].Chinese bulletin of botany,2003,20(6):648-655.
- [2] 刘占德.中国猕猴桃产业创新发展报告[R].猕猴桃产业国家创新联盟,2020.
LIU Z D.China kiwifruit industry innovation development report[R].Kiwifruit industry national innovation alliance,2020.
- [3] MANNING M,BURDON J,DE S N,et al.Maturity and postharvest temperature management affect rot expression in ‘Hort16A’ kiwifruit[J].Postharvest biology and technology,2016,113:40-47.
- [4] BURDON J,PIDAKALA P,MARTIN P,et al.Softening of ‘Hayward’ kiwifruit on the vine and in storage:the effects of temperature[J].Scientia horticulturae,2017,220:176-182.
- [5] YANG Y J,LIM B S.Temperature and length of cold storage affect the quality maintenance of fresh kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch)[J].Journal of the Korea academia-industrial cooperation society,2017,18(1):256-261.
- [6] YANG Y J,LIM B S.Effects of high carbon dioxide and ethylene treatment on postharvest ripening regulation of red kiwifruit (*Actinidia melanandra* Franch)during cold storage[J].Journal of the Korea academia-industrial cooperation society,2017b,18(1):478-485.
- [7] LIEVRE D L,ANDERSON R,BOLDINGH H,et al.Modifying carbohydrate supply to fruit during development changes the composition and flavour of *Actinidia chinensis* var.*chinensis* ‘Zesy002’ Kiwifruit[J].Plants,2021,10:1328.
- [8] BURDON J,LALLU N,FRANCIS K,et al.The susceptibility of kiwifruit to low temperature breakdown is associated with pre-harvest temperatures and at-harvest soluble solids content[J].Postharvest biology and technology,2007,43:283-290.
- [9] ZHANG A D,WANG W Q,TONG Y,et al.Transcriptome analysis identifies a zinc finger protein regulating starch degradation in kiwifruit[J].Plant physiology,2018,78:850-863.
- [10] SHOAIB N,LIU L,ALI A,et al.Molecular functions and pathways of plastidial starch phosphorylase(*PHO1*)in starch metabolism:current and future perspectives[J].International journal of molecular sciences,2021,22(19):10450.
- [11] LI Y F,JIANG W,LIU C,et al.Comparison of fruit morphology and nutrition metabolism in different cultivars of kiwifruit across developmental stages[J].Peer journal,2021,9:e11538.
- [12] 高萌,屈魏,冉昇,等.‘徐香’与‘海沃德’猕猴桃冷藏期间组织结构与生理变化差异[J].园艺学报,2020,47(7):1289-1300.

- GAO M, QU W, RAN B, et al. Differences in tissue structure and physiological changes of 'Xuxiang' and 'Hayward' kiwifruit fruits during cold Storage[J]. *Acta horticulturae Sinica*, 2020, 47(7): 1289-1300.
- [13] CHOI H R, BAEK M W, TILAHUN S, et al. Long-term cold storage affects metabolites, antioxidant activities, and ripening and stress-related genes of kiwifruit cultivars[J]. *Postharvest biology and technology*, 2022, 189: 111912.
- [14] WANG H, WANG J, MUJUMDAR A S, et al. Effects of postharvest ripening on physicochemical properties, microstructure, cell wall polysaccharides contents (pectin, hemicellulose, cellulose) and nanostructure of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) [J]. *Food hydrocolloids*, 2021, 118: 106808.
- [15] 陈璐, 毛积鹏, 张小丽, 等. CPPU 处理对猕猴桃果实生长发育及采后品质的影响[J]. *中国南方果树*, 2023, 52(1): 38-46.
- CHEN L, MAO J P, ZHANG X L, et al. Effect of CPPU treatment on growth and post-harvest quality of kiwifruit[J]. *South China fruits*, 2023, 52(1): 38-46.
- [16] GAO, Z, MAO J P, CHEN L, et al. Comparative transcriptome analysis of *Lupinus Polyphyllus* Lindl. provides a rich molecular resource for research on coloration mechanism[J]. *Peer journal*, 2022, 10: e13836.
- [17] BURDON J, MARTIN P, IRELAND H, et al. Transcriptomic analysis reveals differences in fruit maturation between two kiwifruit cultivars[J]. *Scientia horticulturae*, 2021, 286.
- [18] MACK C, WEFERS D, SCHUSTER P, et al. Untargeted multi-platform analysis of the metabolome and the non-starch polysaccharides of kiwifruit during postharvest ripening[J]. *Postharvest biology and technology*, 2017, 125: 65-76.
- [19] CHAI G H, PRATHIBHANI H M, KUMARIHAMI C, et al. Storage temperature influences fruit ripening and changes in organic acids of kiwifruit treated with exogenous ethylene[J]. *Horticultural science and technology*, 2019(5): 37.
- [20] 朱婷婷, 陈景丹, 方筱琴, 等. 低温贮藏对猕猴桃果实成熟软化相关基因表达影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(10): 2199-2208.
- ZHU T T, CHEN J D, FANG X Q, et al. Effects of low temperature storage on the expression of genes involved in maturation and softening of kiwifruit fruits[J]. *Journal of nuclear agricultural sciences*, 2020, 34(10): 2199-2208.
- [21] 赵孟良, 李莉. 采后环境及处理对猕猴桃贮藏品质研究进展[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(16): 5444-5448.
- ZHAO M L, LI L. Research progress on the storage quality of kiwifruit influenced by post-harvest environment and treatment [J]. *Molecular plant breeding*, 2018, 16(16): 5444-5448.
- [22] 杨丹, 王琪凯, 张晓琴. 贮藏温度对采后“金艳”猕猴桃品质和后熟的影响[J]. *北方园艺*, 2016(02): 126-129.
- YANG D, WANG Q K, ZHANG X Q. Effect of different storage temperatures on the quality and postharvest ripening of 'Jinyan' kiwifruit[J]. *Northern horticulture*, 2016(2): 126-129.
- [23] 陈景丹, 许凤, 陈伟, 等. 猕猴桃果实采后软化期间淀粉降解关键基因表达分析[J]. *核农学报*, 2018, 32(2): 236-243.
- CHEN J D, XU F, CHEN W, et al. Starch degradation and analysis of key-gene expression during postharvest kiwifruit softening[J]. *Journal of nuclear agricultural sciences*, 2018, 32(2): 236-243.
- [24] 苗雨露, 赵东方, 张凯星, 等. ABA 处理对香蕉果实淀粉代谢的影响[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(6): 1807-1811.
- MIAO Y L, ZHAO D F, ZHANG K X, et al. Effects of ABA treatment on starch metabolism in banana fruit[J]. *Molecular plant breeding*, 2018, 16(6): 1807-1811.
- [25] RUAN Y L. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling[J]. *Annual review of plant biology*, 2014, 65(1): 33-67.
- [26] 董晨, 决登伟, 赵秋芳, 等. 香蕉淀粉磷酸化酶基因与果实成熟关系的研究[J]. *中国南方果树*, 2016, 45(4): 80-82.
- DONG C, JUE D W, ZHAO Q F, et al. Study on the relationship between banana starch phosphorylase gene and fruit ripening [J]. *South China fruits*, 2016, 45(4): 80-82.
- [27] ASICHE W O, MITALO O W, KASAHARA Y, et al. Comparative transcriptome analysis reveals distinct ethylene-independent regulation of ripening in response to low temperature in kiwifruit[J]. *BMC plant biology*, 2018, 18: 47.
- [28] 柴吉钊, 刘璐, 陈景丹, 等. 两品种猕猴桃果实采后淀粉降解特性比较分析[J]. *核农学报*, 2021, 35(9): 2065-2074.
- CHAI J C, LIU L, CHEN J D, et al. Comparative analysis of starch degradation characteristics of two varieties of kiwifruit after harvest[J]. *Journal of nuclear agricultural sciences*, 2021, 35(9): 2065-2074.
- [29] TONG X L, WANG Z Y, MA B Q, et al. Structure and expression analysis of the sucrose synthase gene family in apple[J]. *Journal of integrative agriculture*, 2018, 17(4): 847-856.
- [30] 宋康华, 饶景萍, 常晓晓, 等. 柿果实内切-1, 4- β -葡聚糖酶基因克隆与定量表达分析[J]. *园艺学报*, 2011, 38(10): 1893-1900.
- SONG K H, RAO J P, CHANG X X, et al. Studies on cloning and real-time expression of endo-1, 4- β -glucanase gene in persimmon fruit[J]. *Acta horticulturae Sinica*, 2011, 38(10): 1893-1900.
- [31] 匡云波, 赖钟雄. 香蕉叶片颗粒结合性淀粉合成酶 I 和可溶性淀粉合成酶 III 基因的克隆与序列分析[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(1): 70-78.
- KUANG Y B, LAI Z X. Cloning and sequence analysis of GBSS I and SS III from the leaves in *Musa* spp. [J]. *Chinese journal of tropical crops*, 2012, 33(1): 70-78.