DOI:10.12441/spyswjs.20250609003 [文章编号] 1673-1689(2026)05-0038-12

基于转录组学解析白光诱导采后桃形李果实花色苷合成的机制

楼厉川 殷梦瑶 周宇薇 宦 晨 郑小林 沈淑铃*

(浙江工商大学食品与生物工程学院,浙江 杭州 310018)

摘要:【目的】探究白光诱导对采后桃形李果实花色苷合成的调控机制。**【方法】**以黑暗处理为对照,测定白光处理对桃形李果实花色苷质量分数的影响。通过加权基因共表达网络分析(WGCNA)筛选与花色苷合成相关的共表达模块及核心基因,并结合实时荧光定量PCR(RT-qPCR)验证基因表达水平。利用酵母单杂交(Y1H)方法验证转录因子与*PsANS*启动子的互作关系。**【结果】**白光处理可显著提高桃形李果实花色苷质量分数。WGCNA结果显示,MEdarkred和MElightcyan1模块与花色苷合成显著相关,共筛选获得12个花色苷合成相关基因,其中*PsANS*为核心基因。RT-qPCR结果证实,*PsANS*基因与筛选得到的转录因子表达均明显上调。Y1H试验结果表明,转录因子PsbHLH2、PsbZIP4、PsGRAS1、PsMYB1可与*PsANS*启动子结合。**【结论】**白光可通过激活以*PsANS*为核心基因的转录调控网络,促进采后桃形李果实花色苷的积累。

关键词:桃形李;花色苷;白光诱导;转录组学

Elucidating the Mechanism of White Light-induced Anthocyanin Synthesis in Postharvest Taoxingli Plum Fruits *via* Transcriptomics

*LOU Lichuan YIN Mengyao ZHOU Yuwei HUAN Chen ZHENG Xiaolin SHEN Shuling**

(School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to investigate the regulatory mechanism of white light-induced anthocyanin synthesis in postharvest Taoxingli plum fruits. [**Method**] With dark treatment as the control, the effect of white light treatment on the mass fraction of anthocyanins in Taoxingli plum fruits was measured. Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was performed to screen co-expression modules and core genes related to anthocyanin synthesis. Reverse transcription real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was employed to validate gene expression levels. Yeast one-hybrid (Y1H) assay was employed to verify the interactions between transcription factors and the *PsANS* promoter. [**Result**] White light treatment significantly increased the mass fraction of anthocyanins in Taoxingli plum fruits. WGCNA results revealed that the MEdarkred and MElightcyan1 modules were significantly correlated with anthocyanin synthesis, containing 12 anthocyanin synthesis-related genes, among which *PsANS* was identified as the core gene. RT-qPCR results confirmed the upregulated expression of *PsANS* gene and selected transcription factors. Y1H assay results demonstrated that transcription factors (PsbHLH2, PsbZIP4, PsGRAS1, and PsMYB1) could bind to the *PsANS* promoter. [**Conclusion**] White light promotes postharvest anthocyanin accumulation in Taoxingli plum fruits by activating the *PsANS*-centered transcriptional regulatory network.

Keywords: Taoxingli; anthocyanin; white light-induced; transcriptomics

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(32102041);国家自然科学基金面上项目(32072280,32372407)。

通信作者:沈淑铃(1990—),女,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事果蔬采后贮藏加工和品质研究。E-mail:shulingshen@163.com

收稿日期:2025-06-09 **修回日期:**2025-08-03

桃形李为典型的呼吸跃变型水果，主产地为浙江省嵊州市，是浙江特色农产品。桃形李成熟期集中于7~8月，正值当地高温多雨的气候时段。高温环境会显著增强果实的呼吸代谢，加速果实质地变软，仅4~5 d的贮藏期极大限制了桃形李的市场流通与销售。同时，浙江东南沿海的地理位置使该区域在夏季频繁遭遇台风侵袭，极易导致田间未采收的桃形李果实裂果、落果，造成严重的经济损失。为规避气象灾害风险，生产中常采用提前采收的方式，然而未完全成熟的果实普遍存在口感偏酸、色泽不均等问题，且采后成熟过程亦无法改善其风味与色泽。因此，科学确定采收期并实施有效的采后保鲜技术，对稳定桃形李果实品质、保障种植户收益具有重要意义[1-3]。

花色苷是表征桃形李果实成熟度的关键标志物。目前，其生物合成路径已基本明晰，主要包含苯丙烷代谢和类黄酮-花色苷代谢2部分[4]。花色苷在内质网中经酶促反应合成后，通过转运蛋白转运至囊泡中并发挥其生物活性。花色苷的生物合成过程受多种转录因子的调控。其中，由R2R3-MYB、bHLH和WD40转录因子组成的MBW复合体，是调控花色苷合成的关键组成部分[5]。作为MBW复合体的重要组成部分，*MYB10*基因对花色苷的调控功能已在苹果[6]、梨[7]、桃[8]和李子[9]等多种水果中得到证实。除MBW复合体外，bZIP、WRKY和ERF等转录因子也会参与花色苷生物合成的调控过程。已有研究表明，梨光敏转录因子PybZIPa可通过结合G-box与*PyUFGT*启动子发生相互作用[10]；干旱胁迫条件下，MdERF38可与MdMYB1相互作用，进而刺激目标基因*MdDFR*和*MdUF3GT*的表达[11]。

花色苷作为重要的植物次生代谢产物，其生物合成受到遗传背景、内源激素状态及外部环境条件等多重因素调控。在诸多环境因子中，光照是影响花色苷合成最关键的外部调控因素。光照对花色苷的合成影响主要体现在光质、光强等方面，不同波长的光可通过激活特定的光受体和信号转导途径差异化调控花色苷合成相关基因的表达[12]。采后芒果经白光结合高剂量UV-B（WL+UV-BH）处理后，果皮中花色苷含量显著升高，同时伴随着合成相关基因（如*CHS*、*F3H*、*DFR*和*ANS*）及光信号转导基因（如*HY5*和*COP1*）的显著上调。不同光质处理采后甜樱桃的研究表明，蓝光可显著诱导果实花色苷的积累，而UV-B处理与黑暗对照均无显著促进效果[13]。沈震[14]研究发现，苹果中*MYB11L*基因可被紫外光和可见光诱导表达，进而促进花色苷的合成。另有研究表明，相较于黑暗条件，自然光处理可显著加速李果皮花色苷的积累[15]。

目前，光照对花色苷生物合成调控的研究大多集中在苹果和梨上[16]，李果实的相关研究较少，尤其是在光调控花色苷合成的关键转录因子家族的鉴定方面尤为不足。随着转录组测序技术的广泛应用，利用其解析植物次生代谢产物的合成机制及其对逆境条件的响应模式已成为主流研究方向。Sun等[17]通过转录组学分析明确了光信号诱导下*VvF3'H*基因的表达特征，并筛选出与其功能密切相关的MYB、bHLH、ERF等转录因子。Zhao等[18]研究表明，‘Yulu’桃果实对UV-A辐射不敏感，这可能与*COP10*、*HYH*、*GST*基因在‘Yulu’和‘Hujingmilu’2个品种间的差异表达有关；瞬时表达试验证实，*PpGST1*在花色苷转运中发挥重要作用，其表达水平与花色苷积累量呈显著正相关。

白光作为一种复合光源，具有成本低廉、获取便捷、能耗较低等优点，相较于单一波长光源，更适用于果实采后规模化保鲜处理。已有研究证实，白光可有效促进李果实中花色苷的合成[9,19]，是改善采后李果实色泽品质的有效方法。其在促进花色苷合成方面具有显著优势与广泛的应用潜力。作者以转色期桃形李为研究对象，采用转录组测序技术（RNA-seq）、加权基因共表达网络分析（WGCNA）和酵母单杂交试验，系统探究白光处理对采后桃形李果实花色苷合成的影响及其转录调控机制，以期为采后桃形李果实贮藏提供理论依据与技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

桃形李采收于浙江嵊州金庭镇，运输至作者所在实验室后置于阴凉环境进行田间热消散。样品筛选标准为：果实规格统一、表面无擦伤痕迹、未遭受机械破坏或病虫侵害，且成熟度保持一致。

硼酸、甲醇、KCl、醋酸钠：均为分析纯，上海源叶生物科技有限公司；Y1H Gold酵母细胞：上海唯地生物技术有限公司；Matchmaker Insert Check PCR Mix 1：宝日医生物技术（北京）有限公司；RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒：天根生化科技（北京）有限公司；2×TransTaq® High Fidelity（HiFi）试剂盒：北京全式金生物技术有限公司；质粒小提试剂盒：爱思进生物技术（杭州）有限公司。

1.2 仪器与设备

色差仪：CR-400型，日本CHROMA METER公司；光照培养箱：GXZ-380B型，宁波江南仪器厂；PCR仪：TC-XP-G型，美国应用生物系统公司；电泳仪：DYY-6C型，北京六一生物科技有限公司；凝胶成像系统：BIO-RAD型，上海伯乐生命医学产品有限公司；切胶仪：ZF-1型，上海嘉鹏科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 桃形李果实处理

桃形李果实随机分为2组，每组300个果实。光照组置于光照培养箱内，接受白光照射，温度为（20±1）℃；对照组在相同温度下进行黑暗处理。分别于处理前（0 d）及照射处理2、4、6、8、10、12 d进行样本采集，每个时间点随机选取30个果实。取样部位为果实赤道面的果皮与果肉组织，样品采集后立即用液氮快速冷冻，随后转移至−80 ℃超低温冰箱保存备用。

1.3.2 色差测定

从各组样本中随机抽取30个果实，使用色差仪在果实最大横径的两侧分别测定L^*、a^*、b^*值[20]。其中，a^*值反映了桃形李果实的红绿色调变化，正值为红色，负值为绿色[2]。按式（1）计算色泽饱和度。

$$C^2=\frac{a^{*2}+b^{*2}}{2} \tag{1}$$

式中：

C——色泽饱和度；

a^*——红绿值；

b^*——黄蓝值。

按式（2）~（3）计算色调值。

$$H°=\arctan\left(b^*/a^*\right)\left(a^*>0,b^*>0\right) \tag{2}$$

式中：

$H°$——色调值；

a^*——红绿值；

b^*——黄蓝值。

$$H°=\arctan\left(b^*/a^*\right)+180\left(a^*<0,b^*>0\right) \tag{3}$$

式中：

$H°$——色调值；

a^*——红绿值；

b^*——黄蓝值。

按式（4）计算红色葡萄果实色泽指数（CIRG）[9,21-22]。其中，CIRG<2为黄绿色，2<CIRG<4为粉红色，4<CIRG<5为红色，5<CIRG<6为深红色，CIRG>6为蓝黑色[21,23]。

$$e=\frac{180-H°}{L^*+C} \tag{4}$$

式中：

e——红色葡萄果实色泽指数；

L^*——亮度值；

C——色泽饱和度；

$H°$——色调值。

1.3.3 花色苷质量分数测定

采用pH示差法测定花色苷质量分数[9,24]，取1 g果实粉末，加入4 mL体积分数1%的HCl-甲醇溶液，4 ℃避光浸提2 h，于4 ℃、12 000 g离心20 min，收集上清液。取2个10 mL的离心管，在1号离心管中加入1 mL稀释液，再加入3 mL KCl缓冲溶液（0.2 mol/L，pH 1.0），混匀后反应15 min，分别在510 nm和700 nm测定吸光度。根据上述步骤，将2号离心管中的KCl缓冲溶液替换为醋酸钠缓冲溶液（0.2 mol/L，pH 4.5）。根据式（5）~（6）计算花色苷质量分数。

$$A=(A_1-A_2)-(A_3-A_4) \tag{5}$$

式中：

A——溶液最终吸光度；

A_1——pH为1.0时，溶液在510 nm的吸光度；

A_2——pH为1.0时，溶液在700 nm的吸光度；

A_3——pH为4.5时，溶液在510 nm的吸光度；

A_4——pH为4.5时，溶液在700 nm的吸光度。

$$\omega=\frac{A\times M\times n\times V}{m\times\varepsilon\times L} \tag{6}$$

ω——花色苷质量分数，mg/100 g；

A——溶液最终吸光度；

M——矢车菊素-3-O-葡萄糖苷（C3G）的相对分子质量，449.2；

n——稀释倍数；

V——待测液体积，mL；

m——样品质量，g；

ε——C3G的消光系数，26 900 L/(mg·cm)；

L——光程，1 cm。

1.3.4　转录组学分析

采用RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒提取桃形李样本的总RNA[25-26]。利用Nanodrop 2000检测RNA的浓度和纯度，结合琼脂糖凝胶电泳检验其完整性，筛选符合标准的RNA样品用于后续cDNA文库制备。转录组测序工作由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

采用DESeq2软件进行基因差异表达分析，将满足FDR<0.05和|lb FC|≥1的基因判定为差异基因（DEGs）。使用R脚本进行KEGG通路富集分析。基于R studio平台的WGCNA软件包创建加权基因共表达网络分析，选取中位数绝对偏差（MAD）排名前75%的基因用于网络构建，最终获得18 336个基因用于构建特征WGCNA。在标准WGCNA中，软阈值设置为16，最小模块30，高度0.25。使用R和R studio运行WGCNA的R软件包[27-29]。

1.3.5　实时荧光定量PCR验证

使用PrimeScript™ RT Master Mix（TaKaRa）试剂盒将RNA反转录为cDNA。使用TB Green® Premix ExTaq™IIFAST qPCR进行实时荧光定量PCR分析，引物序列见表1。采用Primer 5.0软件用于设计相关引物。以未处理（0 d）果实基因表达量为参照，*PsACT*为内参基因，通过$2^{-\Delta\Delta C_t}$计算基因表达量[1,26]。

表1　实时荧光定量PCR引物序列

Table 1　Primers for real-time qPCR

基因	上游引物（5′—3′）	下游引物（5′—3′）
PsACT	CTTCCAACCATCACTCATT	CCTAATATCCACATCACACTT
PsPAL	AGGATTACGGAATGCAGGTCTT	TCGATAATCTTTCCCTCGCAGATAG
Ps4CL	AACACTTTAAGGTTGTCACAGTGGA	TCAAGCTCTTGTGCGTTAGAAT
PsC4H-2	CGTTGCTGCAATTGAAACAACACTA	GGATGTCTGGCTCTGTGATTTG
PsF3H	CAGATTGTTGATCACGGAGTTGATG	GTAAATGGCTGGAGACGATGAA
PsCHI-1	TCTCAGATCACAACCACCAAGC	CAGGAGCAGAAATAAGAGCATCA
PsCHI-2	GACAACGATACTGCCACTAACC	AGACCTCAAGGAACTTCTCAAT
PsCHS	GGTGGTGGTTGAAATTCCTAAA	GTGCAAAAGACCAAATGGGTAA
PsDFR	AATGACTGGTTGGATGTA	GTTGGGATAATGGTAATGAA
PsANS	GAGGGCGCTAGCAACCAAG	GCCAGGAACCATGTTGTGGAG
PsUFGT	GAGTCCCTTGGCTTCCTCTT	AGTTGGCCCATTTGATGCAG
PsERF2	GAACGCGAAGAAGAGCAGTAAT	CTGTTGAAATAGAGGGTGGTGA
PsbZIP2	CACACACTGATTCATACAATATGGG	TGGCTGGTAAGGATGAAACTGT
PsbZIP3	CTTCTTCTAGTGGGACATCCTC	ATCTGAGCCATCAAATCATCCA
PsbZIP4	AAGAGGATGTTGTCGAATCGCGAAT	ATTGTTTGACATCTCCAGTCGG
PsMYB1	GGGAATAGATCCAAATAACCAC	CAAGATTCATCCTCTAAGCAAC
PsNAC1	TTAATGCCACCATCCATAAGTC	GCTGCTCATTATCCCATCAAAA
PsNAC2	GGTCCTCTACACCAACTACGGA	CTTTGATGCTTGAACCACATTG
PsNAC3	TCATCCCTGAGGTTGAAGTTTG	CTCTGTTTGATCTGCTCCCATT
PsWRKY1	GTGGATGAGGTCGACTTCTTTTCTG	TTCTCCTTCTTGACGCTGATTG
PsWRKY2	CCCTCGTGCATATTATAGGTGT	GCTAGCAAATTGTTTGGGTTCA
PsbHLH1	GTGGTGGAGGGTACAGAGGAGT	GCTGACAGAAGCAGAAACATTG
PsbHLH2	AACTTCGCCAATATGGTTACAC	AGAGTCGCAACTGATAAGGGAG
PsGRAS1	CTGTAGACTGGGCCAAATGGTA	CAACTGACGAATGACAAACTCA
PsGRAS2	CTATACCGACCCATTTCAGCTT	CCGCCTATGATACTATCCATCC

1.3.6 基因克隆与序列分析

采用 2×TransTaq® High Fidelity（HiFi）试剂盒进行基因克隆，通过 PCR 获得扩增产物，并利用琼脂糖凝胶电泳进行检测。对于符合预期大小的目标片段，使用 FastPure® Gel DNA Extraction Mini Kit（Vazyme）进行凝胶切割和回收。随后，将回收的 DNA 片段与 pMD™18-T 载体进行连接，并通过热激转化法导入大肠杆菌 DH5α 感受态细胞（Takara）。将转化后的菌液涂布于含氨苄青霉素的 LB 培养基中，37 ℃恒温过夜培养。挑取单菌落进行 PCR 验证，将阳性克隆菌落送至生工生物工程（上海）股份有限公司测序，测序结果采用 CLC Sequence Viewer 7 软件进行序列比对分析。对序列正确的菌落进行扩大培养，并使用质粒小提试剂盒提取重组质粒。

1.3.7 酵母单杂交试验

利用 *Bbs* I 限制性内切酶（NEB）对 pAbAi-PsANS 进行线性化处理，随后采用 Li Ac 热激转化技术将诱饵载体导入 Y1H Gold 酵母细胞中。将转化后的菌液均匀涂布于 SD/-Ura 固体培养基上，30 ℃培养 3~5 d。采用 Matchmaker Insert Check PCR Mix 1（TaKaRa）试剂盒验证目标片段是否插入成功，阳性菌株用体积分数 50% 的甘油保藏。使用 9 g/L 氯化钠溶液重悬阳性酵母菌，并将菌液 OD_{600} 值调整至 0.02。将菌液滴加至含不同质量浓度金担子素（AbA）的 SD/-Ura 固体培养基上，30 ℃培养 3~5 d，确定可有效抑制酵母自激活的最低金担子素质量浓度。

将含启动子-pAbAi 重组质粒的酵母菌液在 YPDA 培养基上划线，30 ℃培养 3~5 d，随后制备酵母感受态细胞。采用 Li Ac 热激转化技术将含有转录因子的重组 AD 质粒转入酵母菌中，以 AD 质粒为阴性对照。将酵母菌液涂布于 SD/-Leu/AbA 培养基上培养，挑选单菌落进行 PCR 验证。

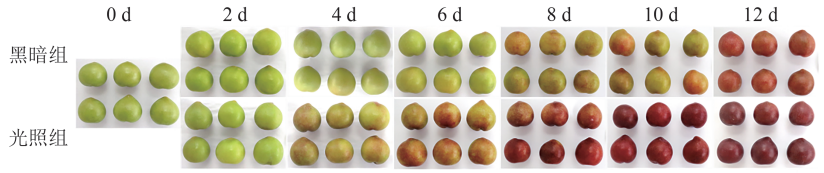
1.4 数据统计与分析

数据以平均值±标准误差表示，采用 SPSS Statistics 18.0 进行显著性分析，$P<0.05$ 表示差异显著。使用 Microsoft Office Excel 2010、TBTools、Rstudio、Cytoscape 绘图。

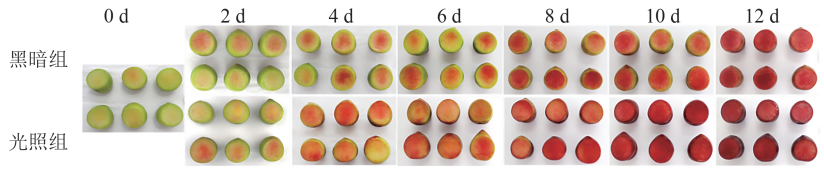
2 结果与讨论

2.1 光照处理对采后桃形李果实花色苷质量分数的影响

在贮藏期间，桃形李果实的果皮与果肉色泽逐渐转向紫红色，见图 1。经光照处理的果实在贮藏第 4 天即可出现转红现象，对照组则延迟至第 8 天才开始发生色泽转变。光照组果实的 a^* 值自贮藏第 4 天快速升高，于第 8 天达到峰值，表明桃形李果实颜色由绿色转变为红色；黑暗组果实 a^* 值第 6 天才出现显著上升。CIRG 的变化趋势与 a^* 值结果一致，见图 2。光照处理可显著促进桃形李果实花色苷的积累，其质量分数与果实颜色变化趋势一致。当贮藏时间为 10 d 和 12 d 时，光照组的花色苷质量分数分别是黑暗组的 3.8 倍和 3.3 倍，见图 3。本研究结果与苹果[14]、梨[30]、蓝莓[31]等果实中的研究结果一致，证实光照能够有效促进果实花色苷的合成与积累。



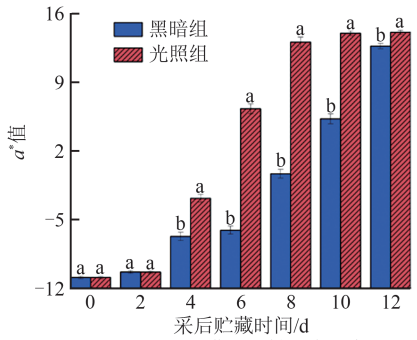
(a) 白光处理对贮藏期间桃形李果实果皮色泽的影响



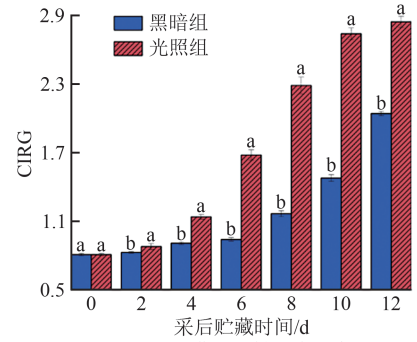
(b) 白光处理对贮藏期间桃形李果实果肉色泽的影响

图 1 白光处理对贮藏期间桃形李果实色泽的影响

Fig. 1 Effect of white light treatment on the color of plum fruits during storage



(a) 白光处理对贮藏期间桃形李果实a^*值的影响

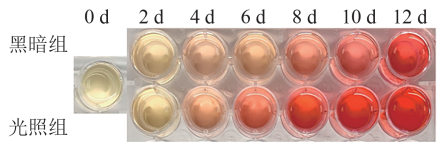


(b) 白光处理对贮藏期间桃形李果实CIRG的影响

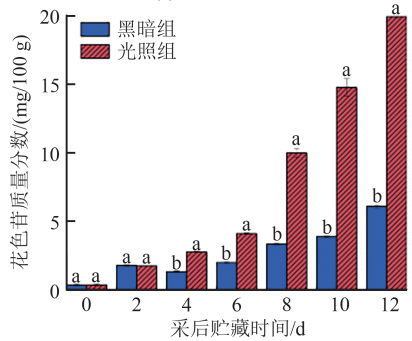
不同字母表示相同采后贮藏时间下不同处理组间差异显著（P<0.05）。

图2　白光处理对贮藏期间桃形李果实色差的影响

Fig. 2　Effect of white light treatment on the color difference of plum fruits during storage



(a) 花色苷提取液



(b) 花色苷质量分数

不同字母表示相同采后贮藏时间下不同处理组间差异显著（P<0.05）。

图3　白光处理对贮藏期间桃形李果实花色苷的影响

Fig. 3　Effect of white light treatment on the anthocyanins of plum fruits during storage

2.2　差异基因KEGG结果

光照组和黑暗组果实颜色发生明显转变的时间点分别为贮藏第4天和第8天，至第12天时2组果实颜色趋于相近。因此作者分别选择0、4、8、12 d的果实样本进行转录组学测序分析，并对4、8、12 d样本的差异表达基因（DEGs）进行KEGG通路富集分析，见图4。4 d与8 d的DEGs主要富集在卟啉与叶绿素代谢通路，8 d与12 d的DEGs主要富集在花色苷合成通路和类黄酮代谢通路，表明果实色素代谢途径发生了明显转换。果实色泽主要由叶绿素、类胡萝卜素和花色苷等色素的组成与含量共同决定[32]。果实内叶绿素含量较高时，会掩盖其他色素的显色效果，使果实呈现典型的绿色特征[33-34]。随着果实的成熟，叶绿素逐渐降解，这种遮盖作用不断减弱，同时花色苷等色素大量合成，最终使得果实颜色由绿色转为紫红色[35-36]。

此外，3组DEGs在光合作用、光合作用-天线蛋白及光合生物的固碳作用中均显著富集，这些代谢通路与光保护机制密切相关。张国静[15]研究发现，经ATP、NADPH、NADH溶液浸泡后的李果实花色苷含量显著上升，表明光处理可能通过诱导花色苷积累来保护植物免受强光损伤。此外，光处理还可上调光合作用相关基因的表达，从而增强植物的能量代谢，而代谢产生的ATP和NADPH可进一步促进花色苷的积累。

2.3　WGCNA结果

WGCNA可对表达模式相近的基因进行聚类，并对共表达模块和性状进行关联分析。基于MAD排名前75%的标准筛选出18 336个基因，以花色苷质量分数、a^*值、CIRG为指标构建加权基因共表达网络。样本树状图和性状热图可直观反映基因表达与指标之间的关系，表达趋势一致的基因可聚类到同一共表达模块，见图5。作者构建得到17个模块，见图6。其中MEdarkred和MElightcyan1这2个模块与花色苷质量分数相关性最强，相关系数分别为0.82和0.85，据此推测这2个模块中的基因与花色苷合成过程显著相关。

进一步对2个模块内的基因进行可视化分析，绘制共表达网络，见图7。在MElightcyan1模块中鉴定得到的与花色苷合成密切相关的结构基因有*PsFLS*（evm.TU.Chr1.846）、*PsDFR*（evm.TU. Chr1.2057）；在MEdarkred模块中鉴定得到的与花色苷合成密切相关的结构基因有*PsPAL*（evm.TU.Chr6.2407）、*Ps4CL*（evm.TU.Chr2.3181）、*PsCHS*（evm.TU.Chr1.5839）、*PsC4H*（evm.TU.Chr1.5298）、*PsC4H-2*（evm.TU.Chr6.365）、*PsF3H*（evm.TU.Chr7.2031）、*PsCHI-1*（evm.TU.Chr2.2618）、*PsCHI-2*（evm.TU.Chr2.2237）、*PsANS*（evm.TU.UTG5995.3）、*PsUFGT*（evm.TU.Chr2.3164）。

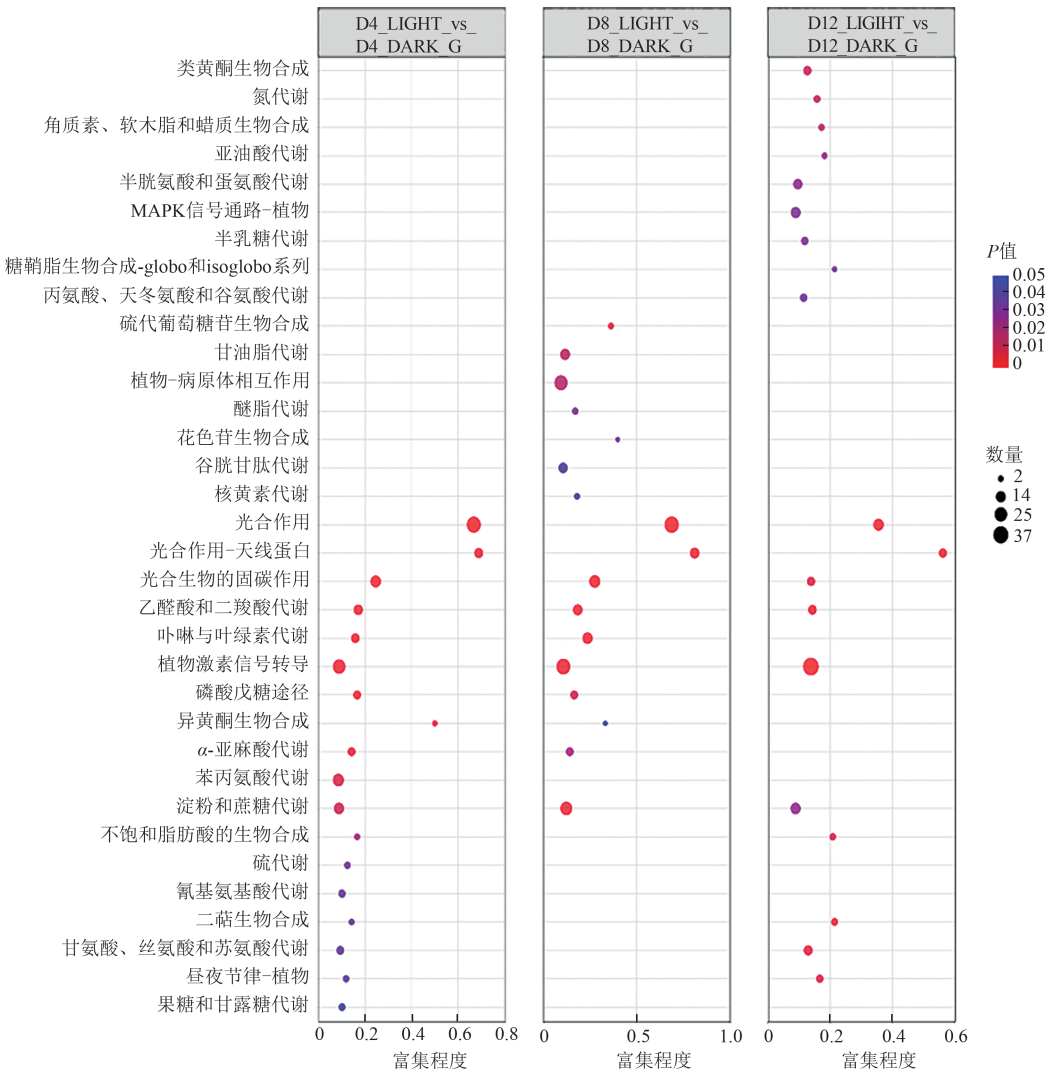
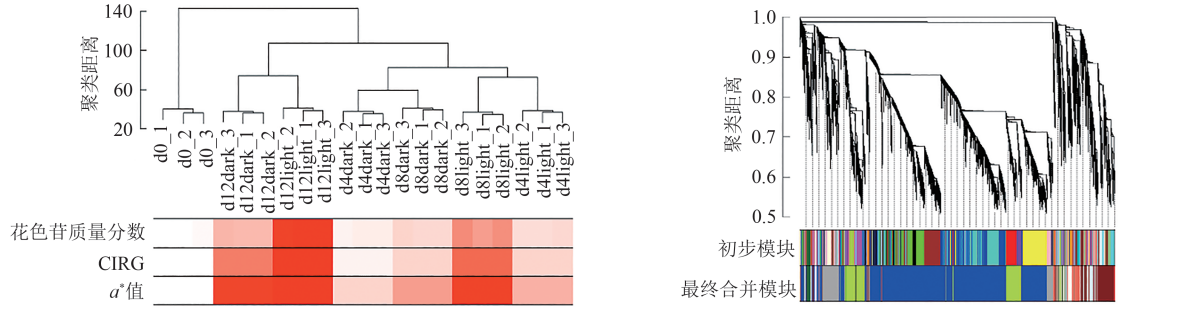


图 4　差异表达基因的 KEGG 通路富集

Fig. 4　KEGG pathway enrichment of differentially expressed genes



(a) 基于基因表达数据和生理数据的样本树状图和性状热图　(b) 拓扑重叠的具有相似性的基因聚类树状图及指定模块颜色

图 5　样本聚类及共表达网络模块识别

Fig. 5　Sample clustering and co-expression network module identification

2.4　候选基因实时荧光定量 PCR 结果

对 2 个指定模块中筛选的 24 个具有特定功能的基因进行 RT-qPCR 分析，见图 8。其中有 10 个结构基因（*PsPAL*、*PsC4H-2*、*Ps4CL*、*PsCHS*、*PsCHI-1*、*PsCHI-2*、*PsF3H*、*PsDFR*、*PsANS* 和 *PsUFGT*）已被证实直接参与花色苷合成；其余 14 个基因被鉴定为花色苷合成相关的转录因子。RT-qPCR 结果表明，这些生物合成基因在光诱导

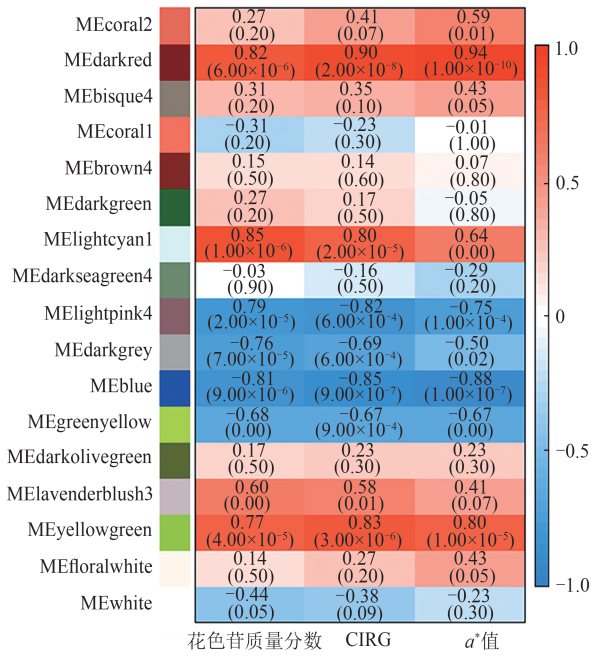
条件下显著上调，与果实花色苷积累的趋势一致。在桃形李果实中，光照条件下结构基因和转录因子的表达水平与花色苷质量分数显著相关，推测这些基因可能参与调控花色苷的生物合成，但其具体调控机制仍有待深入研究。

ANS是花色苷生物合成途径的关键限速酶，可催化无色白藜芦醇苷转化为有色花色素苷，该反应是花色苷显色的关键步骤[4]。已有研究表明，光照处理可显著上调桃果实中*PpANS*基因的表达[37]；光信号通过调控荔枝*CHI*、*F3H*、*ANS*和*UFGT*等关键基因的表达，进而影响花色苷的生物合成进程[38]。对李果实的相关研究显示，光照可激活PsMYB10.1转录因子，该转录因子通过与*PsANS*、*PsUFGT*和*PsGST*等基因的启动子区域发生相互作用，进而调控花色苷的生物合成途径[9]。结合MEdarkred模块的共表达网络分析结果，推测*PsANS*与多个基因存在显著的相关性，且该基因为桃形李光响应及花色苷合成通路中的核心基因。

2.5　酵母单杂交试验结果

2.5.1　启动子自激活验证结果

将*PsANS*启动子构建至pAbAi载体后，对重组载体进行线性化处理，并转化至酵母感受态细胞中，筛选能够抑制基因自激活的AbA质量浓度。试验结果如图9所示，最终确定*PsANS*启动子对应的最低AbA质量浓度为200 ng/mL。



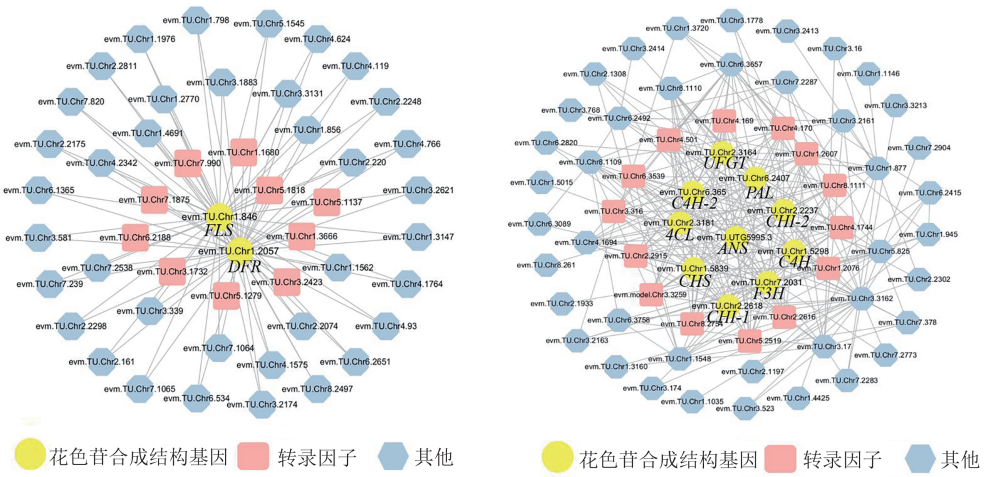
单元格上数字为行为模块特征基因与性状的相关系数；括号内为*P*值。

图6　模块与指标的相关性分析

Fig. 6　Correlation analysis between modules and indicators

2.5.2　候选转录因子与*PsANS*启动子的酵母单杂交试验结果

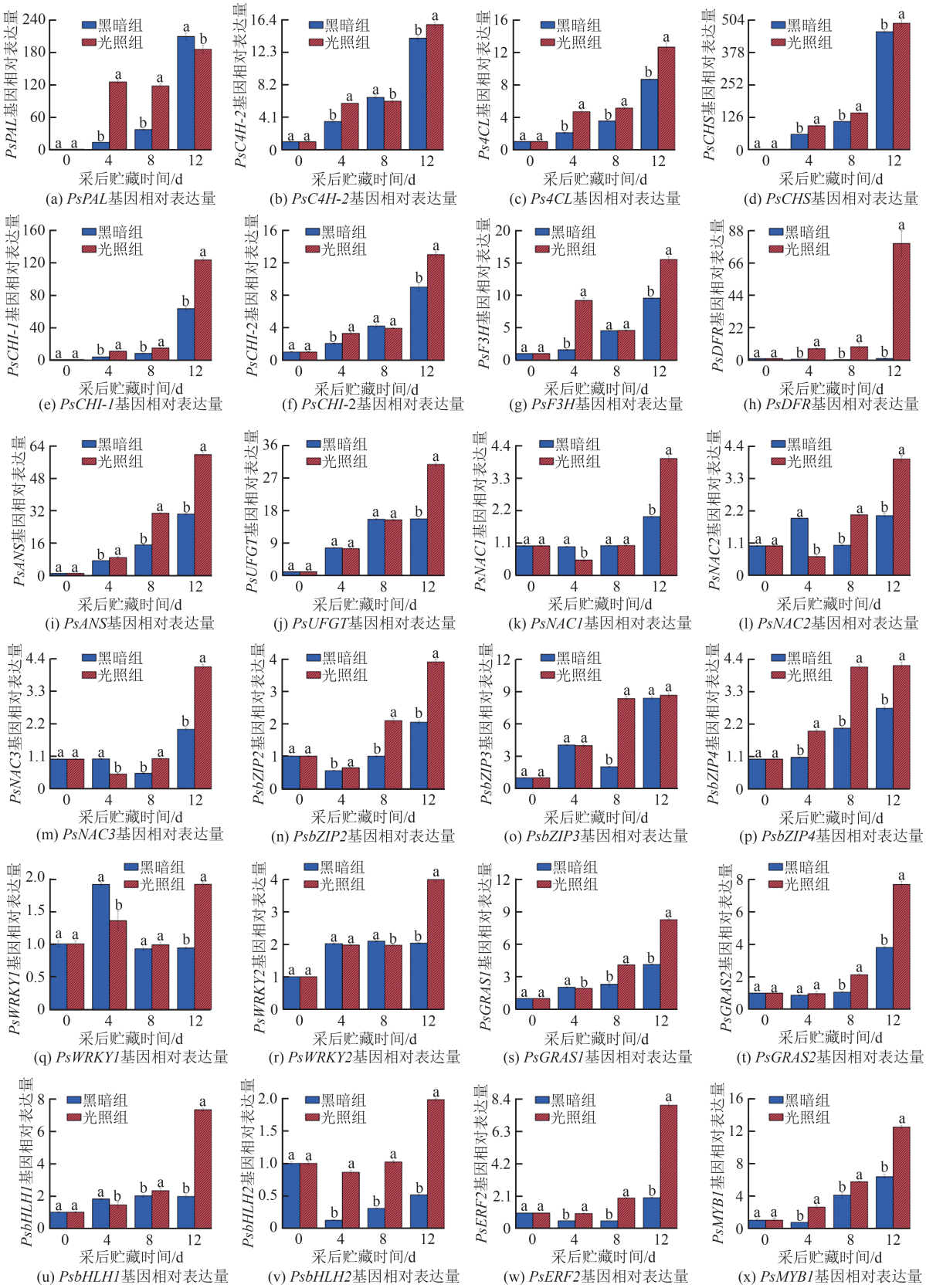
对9个候选转录因子进行酵母单杂交筛选，结果显示，仅PsbHLH2、PsbZIP4、PsGRAS1和PsMYB1在筛选培养基中生长良好，表明这4个转录因子可能对*PsANS*启动子具有直接调控作用，见图10。KEGG通路富集分析结果显示，桃形李贮藏4、8、12 d时，植物激素信号转导通路均表现出明显的富集趋势。已有文献证实，茉莉酸（JA）、



(a) MElightcyan1模块的共表达网络　(b) MEdarkred模块的共表达网络

图7　MElightcyan1和MEdarkred模块的共表达网络

Fig. 7　Co-expression network of MElightcyan1 and MEdarkred modules



不同字母表示相同采后贮藏时间下不同处理组间差异显著（$P<0.05$）。

图 8　MElightcyan1 和 MEdarkred 模块中响应白光处理候选转录因子的基因表达

Fig. 8　Expression of candidate transcription factors in response to white light treatment in MElightcyan1 and MEdarkred modules

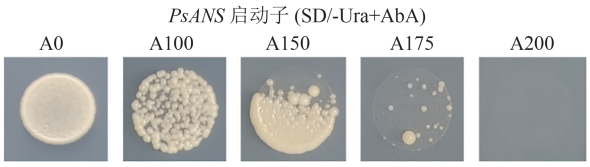


图 9　*PsANS* 启动子的自激活结果

Fig. 9　Auto-activation results of *PsANS* promoter

脱落酸（ABA）、乙烯（ETH）及生长素（IAA）等植物激素形成的信号网络，对花色苷的合成具有重要的调控作用[39-41]。光质调控相关研究发现，红光处理可显著提高草莓果实中花色苷含量。分子生物学研究进一步证实，红光处理能够特异性上调 ABA 合成相关基因的表达[42]。An 等[43]研究发现，光照条件下蓝莓中的花色苷含量与内源激素 JA、ABA、ETH、GA3 及 IAA 的浓度显著相关。另有研究发现，苹果中转录因子 MdbZIP44 可增强 MdMYB1 与花色苷合成基因的结合能力，进而介导 ABA 调控花色苷合成的信号通路[44]。酵母单杂交试验结果表明，PsbZIP4 与 *PsANS* 启动子之间存在相互作用，表明光可能是通过激素信号通路促进花色苷积累，但具体调控机制仍有待进一步验证。

如图 10 所示，PsMYB1 可通过结合 *PsANS* 启动子参与调控桃形李花色苷的合成代谢。对欧李的相关研究表明，ChMYB1、ChbHLH42 和 ChTTG1 这 3 种转录因子可形成蛋白质复合体，直接激活 *ChUFGT* 基因的启动子，从而调控花色苷的合成[45]。在光信号介导的花色苷合成通路中，由 PpbHLH64 和 PpMYB10 构成的 MBW 复合物对相关基因的表达具有明显促进作用[46]。通过系统筛选，确定 PsbHLH2 与花色苷合成密切相关，且酵母单杂交试验进一步证实该转录因子能够结合 *PsANS* 启动子。后续研究将重点探究 PsMYB1、PsbHLH2 与 *PsANS* 启动子之间的调控网络。

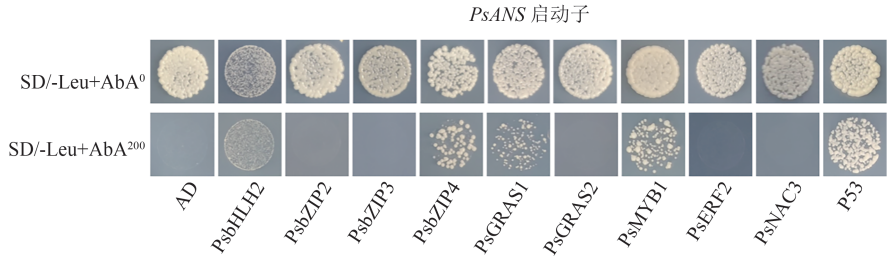


图 10　候选转录因子与 *PsANS* 启动子的酵母单杂交分析

Fig. 10　Y1H assay of candidate transcription factors and *PsANS* promoter

3　结论

白光处理可促进桃形李果实花色苷的生物合成，有效改善果实色泽。通过 RNA 测序与加权基因共表达网络分析，作者成功筛选出 MEdarkred 和 MElightcyan1 这 2 个与花色苷合成密切相关的功能模块。为验证基因共表达网络的可靠性，利用实时荧光定量 PCR 技术对花色苷合成相关结构基因及转录因子的表达模式进行了系统检测。酵母单杂交试验进一步证实，PsbHLH2、PsbZIP4、PsGRAS1 和 PsMYB1 等转录因子均能与 *PsANS* 启动子结合。本研究初步阐明了白光诱导桃形李果实花色苷积累的分子调控机制，为采后光照调控李果着色提供了重要的理论依据与技术参考。

参考文献

[1] 程娇．MeSA 处理调控桃形李采后果实花色苷合成代谢的研究[D]．杭州：浙江工商大学，2022：1.

[2] 徐燕红．1-MCP 处理对嵊州‘桃形李’果实品质、活性氧以及花色苷合成代谢的影响[D]．杭州：浙江工商大学，2020：1.

[3] 化清莹，魏涛，韩伟，等．欧李的成分、挥发性风味及生物活性研究进展[J]．食品与机械，2024，40（12）：186-192.
Hua Q Y，Wei T，Han W，et al．Progress in the study of composition，volatile flavor compounds and bioactivity of Chinese dwarf cherry[J]．Food & Machinery，2024，40（12）：186-192.（in Chinese）

[4] Naing A H，Kim C K．Roles of R2R3-MYB transcription factors in transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in horticultural plants[J]．Plant Molecular Biology，2018，98（1）：1-18.

[5] Jin W M，Wang H，Li M F，et al．The R2R3 MYB

transcription factor PavMYB10.1 involves in anthocyanin biosynthesis and determines fruit skin colour in sweet cherry (*Prunus avium* L.)[J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 14(11): 2120-2133.

[6] Espley R V, Hellens R P, Putterill J, et al. Red colouration in apple fruit is due to the activity of the MYB transcription factor, MdMYB10[J]. The Plant Journal, 2007, 49(3): 414-427.

[7] Feng S Q, Sun S S, Chen X L, et al. PyMYB10 and PyMYB10.1 interact with bHLH to enhance anthocyanin accumulation in pears[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142112.

[8] Tuan P A, Bai S L, Yaegaki H, et al. The crucial role of PpMYB10.1 in anthocyanin accumulation in peach and relationships between its allelic type and skin color phenotype[J]. BMC Plant Biology, 2015, 15(1): 280.

[9] Fang Z Z, Kui L W, Jiang C C, et al. Postharvest temperature and light treatments induce anthocyanin accumulation in peel of 'Akihime' plum (*Prunus salicina* Lindl.) *via* transcription factor PsMYB10.1 [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 179: 111592.

[10] Liu H N, Su J, Zhu Y F, et al. The involvement of PybZIPa in light-induced anthocyanin accumulation *via* the activation of PyUFGT through binding to tandem G-boxes in its promoter[J]. Horticulture Research, 2019, 6: 134.

[11] An J P, Zhang X W, Bi S Q, et al. The ERF transcription factor MdERF38 promotes drought stress-induced anthocyanin biosynthesis in apple[J]. The Plant Journal, 2020, 101(3): 573-589.

[12] Zoratti L, Karppinen K, Luengo Escobar A, et al. Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits[J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 534.

[13] Kokalj D, Zlatić E, Cigić B, et al. Postharvest light-emitting diode irradiation of sweet cherries (*Prunus avium* L.) promotes accumulation of anthocyanins[J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 148: 192-199.

[14] 沈震. 苹果*MYB11L*基因对UV-B和可见光的响应以及在低温胁迫中的功能研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2022: 33.

[15] 张国静. 可见光调控李果实花色苷合成的信号转导机制[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021: 21.

[16] Liu H M, Liu Z J, Wu Y, et al. Regulatory mechanisms of anthocyanin biosynthesis in apple and pear [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(16): 8441.

[17] Sun L, Li S C, Tang X P, et al. Transcriptome analysis reveal the putative genes involved in light-induced anthocyanin accumulation in grape 'Red Globe' (*V. vinifera* L.)[J]. Gene, 2020, 728: 144284.

[18] Zhao Y, Dong W Q, Wang K, et al. Differential sensitivity of fruit pigmentation to ultraviolet light between two peach cultivars [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1552.

[19] Zhang G J, Cui X H, Niu J P, et al. Visible light regulates anthocyanin synthesis *via* malate dehydrogenases and the ethylene signaling pathway in plum (*Prunus salicina* L.) [J]. Physiologia Plantarum, 2021, 172(3): 1739-1749.

[20] 潘飞, 赵磊, 周娜, 等. 天然蓝色花色苷-亚铁螯合物的制备及稳定性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2021(5): 70-77.
Pan F, Zhao L, Zhou N, et al. Preparation of natural blue ferrous anthocyanin chelate and its stability[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021(5): 70-77.(in Chinese)

[21] 程大伟, 陈锦永, 顾红, 等. 红地球葡萄花穗整形方式研究[J]. 中国农业科技导报, 2019, 21(9): 44-50.
Cheng D W, Chen J Y, Gu H, et al. Research on floral cluster pruning methods of red globe grape[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2019, 21(9): 44-50.(in Chinese)

[22] 许玲, 魏秀清, 章希娟, 等. 3个毛叶枣品种的果皮色泽差异研究[J]. 东南园艺, 2017, 5(6): 1-4.
Xu L, Wei X Q, Zhang X J, et al. Studies on skin color difference of three Indian jujube varieties[J]. Southeast Horticulture, 2017, 5(6): 1-4.(in Chinese)

[23] 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: 17.

[24] 张会敏, 任李宁, 刘国宸, 等. 蓝靛果花色苷的提取纯化及稳定性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2025, 44(2): 122-132.
ZHANG H M, REN L N, LIU G C, et al. Extraction, purification, and stability of anthocyanins from *Lonicera caerulea* [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2025, 44(2): 122-132.(in Chinese)

[25] Cheng Y, Wang Y, Lou L C, et al. Transcriptomic analysis reveals the role of abscisic acid and ethylene in regulating starch-source biosynthesis associated with soft nose disorder in 'Keitt' mango fruit during postharvest [J]. Postharvest Biology and Technology, 2024, 209: 112698.

[26] Shen S L, Hu X L, Cheng J, et al. PsbZIP1 and PsbZIP10 induce anthocyanin synthesis in plums (*Prunus salicina* cv. Taoxingli) *via* PsUFGT by methyl salicylate treatment during postharvest [J]. Postharvest Biology and Technology, 2023, 203: 112396.

[27] 刘盛雨．光质对血橙果实多甲氧基黄酮及花青素积累的调控作用[D]．重庆：西南大学，2021：18．
[28] Lou L C，Hu X L，Cheng J，et al. Transcriptomics analysis reveals the regulatory role of PsERF3 in anthocyanin biosynthesis of ‘Taoxingli’ plum fruit in response to MeSA treatment[J]. Postharvest Biology and Technology，2025，220：113298．
[29] Ding T Y，Zhang R P，Zhang H T，et al. Identification of gene co-expression networks and key genes regulating flavonoid accumulation in apple（*Malus domestica*）fruit skin[J]. Plant Science，2021，304：110747．
[30] 于文杰．PpBBX24-like和PpWRKY22L调控红梨花青苷合成的分子机制[D]．杭州：浙江大学，2021：52．
[31] 郭小兰．蓝莓花青素苷合成对光照强度的生理及分子响应[D]．贵阳：贵州大学，2021：16．
[32] Montefiori M，Pilkington S M，Davies K M，et al. Genetics of pigment biosynthesis and degradation[M]. Cham：Springer International Publishing，2016：149-161．
[33] Gwanpua S G，Vicent V，Verlinden B E，et al. Managing biological variation in skin background colour along the postharvest chain of ‘Jonagold’ apples[J]. Postharvest Biology and Technology，2014，93：61-71．
[34] Lu S W，Zhang M W，Zhuge Y X，et al. VvERF17 mediates chlorophyll degradation by transcriptional activation of chlorophyll catabolic genes in grape berry skin [J]. Environmental and Experimental Botany，2022，193：104678．
[35] Li Y K，Qi X J，Li 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)：1465-1473．
[36] Zhu K J，Zheng X J，Ye J L，et al. Regulation of carotenoid and chlorophyll pools in hesperidia，anatomically unique fruits found only in *Citrus*[J]. Plant Physiology，2021，187(2)：829-845．
[37] Ravaglia D，Espley R V，Henry-Kirk R A，et al. Transcriptional regulation of flavonoid biosynthesis in nectarine（*Prunus persica*）by a set of R2R3 MYB transcription factors[J]. BMC Plant Biology，2013，13(1)：68．
[38] Wei Y Z，Hu F C，Hu G B，et al. Differential expression of anthocyanin biosynthetic genes in relation to anthocyanin accumulation in the pericarp of *Litchi chinensis* Sonn[J]. PLoS One，2011，6(4)：e19455．
[39] Ni J B，Zhao Y，Tao R Y，et al. Ethylene mediates the branching of the jasmonate-induced flavonoid biosynthesis pathway by suppressing anthocyanin biosynthesis in red Chinese pear fruits [J]. Plant Biotechnology Journal，2020，18(5)：1223-1240．
[40] Song S S，Qi T C，Huang H，et al. The jasmonate-ZIM domain proteins interact with the R2R3-MYB transcription factors MYB21 and MYB24 to affect jasmonate-regulated stamen development in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell，2011，23(3)：1000-1013．
[41] Wu T，Liu H T，Zhao G P，et al. Jasmonate and ethylene-regulated ethylene response factor 22 promotes lanolin-induced anthocyanin biosynthesis in ‘zaosu’ pear（*Pyrusbretschneideri* Rehd.）fruit[J]. Biomolecules，2020，10(2)：278．
[42] Wang L，Luo Z S，Yang M Y，et al. The action of RED light：specific elevation of pelargonidin-based anthocyanin through ABA-related pathway in strawberry[J]. Postharvest Biology and Technology，2022，186：111835．
[43] An X L，Tan T Y，Song Z J，et al. Physiological response of anthocyanin synthesis to different light intensities in blueberry[J]. PLoS One，2023，18(6)：e0283284．
[44] An J P，Yao J F，Xu R R，et al. Apple bZIP transcription factor MdbZIP44 regulates abscisic acid-promoted anthocyanin accumulation [J]. Plant，Cell & Environment，2018，41(11)：2678-2692．
[45] 笈小龙．ChMYB1调控欧李花青素合成的分子机制[D]．哈尔滨：东北林业大学，2023：64．
[46] Tao R Y，Yu W J，Gao Y H，et al. Light-induced basic/helix-loop-Helix64 enhances anthocyanin biosynthesis and undergoes CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC1-mediated degradation in pear[J]. Plant Physiology，2020，184(4)：1684-1701．