

# 脱落酸和吡效隆对荔枝果皮着色的影响

魏永赞<sup>1,2</sup>, 张红娜<sup>1</sup>, 赖彪<sup>1</sup>, 黄旭明<sup>1</sup>, 胡桂兵<sup>1\*</sup>, 王惠聪<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>华南农业大学园艺学院南方果树生理研究室, 广州 510642; <sup>2</sup>农业部热带果树生物学重点实验室·中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 广东湛江 524091)

**摘要:**【目的】研究脱落酸(ABA)和吡效隆(CPPU)对荔枝果皮花色苷生物合成及着色的影响,探索 ABA 调控荔枝果实花色苷合成的分子机制。【方法】以‘桂味’荔枝为试材,喷施 ABA 和 CPPU 后,对果皮色泽、色素含量和花色苷合成相关结构基因的表达规律进行分析。【结果】荔枝果实着色过程中,叶绿素含量降低,花色苷含量增加,色度角逐渐降低;喷施 ABA 促进了花色苷的积累,加速了叶绿素含量和色度角的降低,而 CPPU 则起了相反的作用;从花色苷生物合成各基因的表达情况来看,对照果皮 7 个参试的结构基因均在果实成熟着色期间表达量逐步增加,而只有 *LcUFGT* 对 ABA 和 CPPU 两种生长调节剂的反应与果皮花色苷的积累趋势高度吻合,即 ABA 增加了 *LcUFGT* 的表达量,而 CPPU 明显抑制了 *LcUFGT* 的表达。【结论】ABA 通过上调 *LcUFGT* 基因促进了荔枝果皮花色苷的积累,加速了着色进程;而 CPPU 通过抑制 *LcUFGT* 基因的表达减缓了荔枝果皮花色苷的合成,从而延缓荔枝果实着色;ABA 参与了荔枝果皮中花色苷生物合成调控,CPPU 可能通过拮抗 ABA 影响花色苷的合成。

**关键词:** 荔枝; 果实; 花色苷生物合成; ABA; CPPU

中图分类号: S667.2 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2014)04-0653-07

## Effect of abscisic acid and CPPU on the coloration of lychee pericarp

WEI Yong-zan<sup>1,2</sup>, ZHANG Hong-na<sup>1</sup>, LAI Biao<sup>1</sup>, HUANG Xu-ming<sup>1</sup>, HU Gui-bing<sup>1\*</sup>, WANG Hui-cong<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Physiological Laboratory for South China Fruits, College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642 China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Tropical Fruit Biology(Ministry of Agriculture, P.R. China), The South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong, 524091 China)

**Abstract:** 【Objective】The effects of ABA and CPPU on fruit coloration and anthocyanin biosynthesis were explored and the possible molecular mechanism was discussed. 【Method】Lychee cultivar ‘Guiwei’ was used as material. The color parameters, contents of pigments and the expressions of structural genes in anthocyanin biosynthesis in response to ABA and CPPU treatments were analyzed. 【Results】Contents of chlorophylls and hue angle decreased gradually, while contents of anthocyanin increased with fruit coloration. ABA treatment promoted the accumulation of anthocyanins and accelerated the reduction of chlorophyll content and hue angle, whereas CPPU treatment displayed opposite effects. The expressions of the seven structural genes tested in the pericarp of control were all up regulated in paralleling fruit coloration and anthocyanin accumulation. However, only the expressions of *LcUFGT* in the pericarp of ABA and CPPU treatments were generally agreed with the changes of anthocyanins. ABA treatment enhanced, while CPPU treatment postponed the expression of *LcUFGT*. 【Conclusion】ABA promoted anthocyanin accumulation in pericarp of lychee and accelerated coloring process by increasing expression level of *LcUFGT* while CPPU delayed the coloration of the lychee fruit through inhibiting the biosynthesis of anthocyanin. ABA might play an important role in regulation of anthocyanin biosynthesis, while CPPU played its role by antagonizing ABA.

**Key words:** Lychee; Fruit; Anthocyanin biosynthesis; Abscisic acid; CPPU

收稿日期: 2014-01-07 接受日期: 2014-04-01

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(No.CARS-33); 国家自然科学基金(No.31201581); 海南省自然科学基金(No.312033)

作者简介: 魏永赞,男,助理研究员,硕士,主要从事果树栽培生理与分子生物学方面研究。Tel: 0759-2859112, E-mail: wyz4626@163.com

\*通信作者 Author for correspondence. Tel: 020-85282873, E-mail: wanghc@263.net; guibing@scau.edu.cn

在果实成熟过程中,植物激素特别是乙烯和 ABA 作为细胞之间的第一信使起着重要的调控作用。一般认为启动跃变型果实成熟的激素是乙烯,而非跃变型果实的成熟则与 ABA 密切相关<sup>[1-2]</sup>。果皮色泽变化是果实成熟的重要指标之一,花色素苷的含量和组分对色泽的形成具有极其重要的作用。前人研究表明,脱落酸可促进葡萄<sup>[3-4]</sup>、樱桃<sup>[5]</sup>、杨梅<sup>[6]</sup>、荔枝<sup>[7-8]</sup>等大多非跃变型果实花色素苷的合成,对跃变型果实如苹果则作用不明显;而乙烯可以明显促进苹果等跃变型果实花色素苷的积累,对草莓、樱桃等果实的作用则不明显<sup>[2]</sup>。在‘巨峰’葡萄果实转熟时用 1 000 mg·L<sup>-1</sup> 的 ABA 处理,明显促进果皮花色素苷的积累和果实的成熟<sup>[9]</sup>。外源 ABA 能提高樱桃果实的成熟度和花色素苷含量的积累,促进果实软化,而乙烯利处理对果实硬度、花色素苷含量和成熟度指数均没有显著影响<sup>[5]</sup>。荔枝是典型的非跃变型果实,ABA 和乙烯利浸果处理‘妃子笑’荔枝,ABA 处理明显促进花色素苷的积累,乙烯利处理对果皮花色素苷含量没有明显影响,即荔枝果实成熟过程中与色泽发育相关的关键激素是 ABA 而不是乙烯<sup>[7]</sup>。

目前,花色素苷生物合成涉及的结构基因包括苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、查尔酮合成酶(Chalcone synthase, CHS)、查尔酮异构酶(Chalcone isomerase, CHI)、黄酮醇 3-羟化酶(Flavonoid 3-hydroxylase, F3H)、二氢黄酮醇还原酶(Dihydroflavonol 4-reductase, DFR)、花青素合成酶(Anthocyanidin synthase, ANS)和类黄酮基转移酶(UDP-glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase, UFGT)等 15 个结构基因和 2 个调控基因家族(MYB 和 bHLH)相继从葡萄、苹果、杨梅等果树中分离出来<sup>[10-11]</sup>。本研究以着色良好的‘桂味’荔枝果皮作为试材,在果实转色前用 ABA 和 CPPU 进行整株喷施,研究两种药剂对荔枝果实着色和果皮中花色素苷的生物合成相关基因表达情况的影响,探讨 ABA 改善荔枝果实着色的可能机理,为 ABA 和 CPPU 在荔枝果皮花色素苷合成、积累与调控的研究与应用提供理论依据和实践指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料和田间药剂处理

试验选取 13 a 生的‘桂味’(Litchi Chinensis Sonn. ‘Guiwei’)荔枝作为试材,于 2010 年 5 月至 6 月在广州华南农业大学长岗山荔枝资源圃(23°09′38″N, 113°21′13″E)进行。每个处理选取 3 株树,在

果实采收前 1 个月(转色前),分别喷施 25 mg·L<sup>-1</sup> ABA 和 4 mg·L<sup>-1</sup> CPPU,以清水处理为对照,在处理时(0 d)和处理后 1、3、7、14、21 d 采样。采样时将果皮和果肉分开,装入锡纸袋,液氮速冻后于 -80 °C 冰箱保存备用。

### 1.2 荔枝果皮色差分析

利用 CR-300 色彩色差计(Minolta, 日本)测量荔枝果实果肩部果皮色泽<sup>[12-13]</sup>,每份样品随机选择 15 个果实,每个果实测两个点(平行于赤道面)。L 表示亮度变量;a 和 b 表示色方向,a 越大表示红色愈增,a 越小表示绿色愈显;b 值越大表示果实越趋向黄色,而越小则表示越趋向蓝色,h°代表色度角。计算公式为:

$$h^{\circ} = \text{ATAN}(b/a) / 6.2823 * 360 \quad \text{当 } a \geq 0 \text{ 且 } b \geq 0$$

$$h^{\circ} = \text{ATAN}(b/a) / 6.2823 * 360 + 180^{\circ} \quad \text{当 } a < 0 \text{ 且 } b > 0$$

### 1.3 荔枝果皮花色素苷含量测定

总花色素苷含量的测定采用 pH 差示法,参照 Fuleki 等<sup>[14]</sup>。取 4 个果皮圆片放入 3 mL 浸提液(甲醇:水:浓盐酸为 85:12:3)中,室温避光充分浸提(约 5 h)。配制 Buffer1 和 Buffer2, Buffer1: 0.2 mol·L<sup>-1</sup> KCl-0.2 mol·L<sup>-1</sup> HCl (25: 67), pH=1; Buffer 2: 1 mol·L<sup>-1</sup> NaAc-0.4 mol·L<sup>-1</sup> HCl(100:150), pH=5。取 0.5 mL 浸提液于试管中分别加入 2 mL 的 Buffer1 和 Buffer2,用紫外分光光度计(岛津,UV1700) 530 nm 下测定 OD 值。公式如下:花色素含量/(mg·cm<sup>-2</sup>) =  $\Delta OD_{530} * 5 * 3 * 445.2 / 29600 * 4 * s$ ,其中 5 为稀释倍数,3 为提取液体积,445.2 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的相对分子量;29 600 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔比吸收系数(mL·mol<sup>-1</sup>),4 表示圆片个数,S 表示单个圆片的面积。 $S = \pi r^2$ ,  $r = 0.45 \text{ cm}$ 。

### 1.4 叶绿素及类胡萝卜素含量

取 6 个荔枝果皮圆片于 10 mL 80% 丙酮中避光室温浸提 24 h,在分光光度计下分别测浸提液 440 nm、645 nm 和 663 nm 三个波长的吸光值,根据 Arnon<sup>[15]</sup>公式计算出荔枝果皮叶绿素和类胡萝卜素含量。叶绿素及类胡萝卜素含量用 mg·m<sup>-2</sup> 表示,叶绿素 a 质量浓度  $Ca / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 12.7D_{663} - 2.69D_{645}$ ; 叶绿素 b 质量浓度  $Cb / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 22.9D_{645} - 4.68D_{663}$ ; 类胡萝卜素质量浓度  $CK / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 4.7D_{440} - 0.27 (Ca + Cb)$ 。

### 1.5 花色素苷合成途径相关基因的表达分析

1.5.1 荔枝果皮总 RNA 提取和 cDNA 合成 荔枝果皮总 RNA 的提取采用 Tiandz 基因公司 RNAOUT (北京)。用 DNase I (TaKaRa) 消化 DNA, 排除干扰,

用核酸蛋白仪和  $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的浓度和质量。每个样品取 2 mg 总 RNA, 利用 MLV-Reverse Transcriptase kit (Invitrogen) 合成 cDNA 第 1 链(具体方法参照说明书), 用于定量分析。

1.5.2 引物设计 参照 qRT-PCR 引物设计的一般

原则, 根据在荔枝上克隆的花色苷生物合成途径 7 个结构基因序列<sup>[8]</sup>, 用 Primer Premier 5.0 设计各基因的 qPCR 引物(表 1), 委托上海生物工程有限公司合成。

1.5.3 Real-Time PCR 反应和相对表达量分析

表 1 用于定量分析目的及内参基因的引物序列

Table 1 The primer sequences of target and reference genes used in RT-qPCR analysis

基因名称 Gene	正向引物序列(5'→3') Forward primer	反向引物序列(5'→3') Reverse primer	产物 Product/bp
<i>LcPAL</i>	TTGCTCCATAGGGAAACTC	GGTGACGGGATTGGCAAGAT	185
<i>LcCHS</i>	GACATTGTGGTGGTGGAGGT	TATTTAGCGAGACGGAGGAC	242
<i>LcCHI</i>	CGGAGTTTACTTGGAGGATGT	CAGTGACCTTCTCAGAGTATTG	185
<i>LcF3H</i>	GGTGGATAGATGTGACAAAGGAGT	GGTTGTGGGCATTTTGGATAGTA	169
<i>LcDFR</i>	ATAAAGCCAACATCAATGGGAT	AGCCCATATCACTCCAGCAAGT	160
<i>LcANS</i>	AGGAAGTTGGTGTCTGGAAG	CCGTGCTGAGGATTTCAATGGTG	274
<i>LcUFGT</i>	GCCACCAGCGGTTCCCTAATA	ATGCCTCTGCTACTGCTACAATCT	134
<i>LcActin</i>	GTGGTTCTACTATGTTCCTGT	CTCGTCTACTCATCCTTTG	191

Real-Time PCR 反应应用 ABI 7500 Real-Time PCR System 完成。反应体系按照 Real-Time PCR Master Mix (TOYOBO, Japan) 说明书, 反应体积为 20 mL; 反应条件如下:  $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 60 s;  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 60 s;  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 15 s;  $56 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 20 s;  $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 35 s; 40 个循环; 之后进行  $55 \sim 95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  熔解曲线分析。每个样品设 3 个重复。反应结束后通过熔解曲线鉴定产物的特异性。运用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  法进行数据处理<sup>[16]</sup>, 计算出 *LcPAL*、*LcCHS*、*LcCHI*、*LcF3H*、*LcDFR*、*LcANS* 和 *LcUFGT* 等花色苷生物合成途径基因在不同套袋处理下的表达水平。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对荔枝果实色泽的影响

由图版可以看出, 喷施 ABA 可以明显促进‘桂味’果实的着色; 而喷施 CPPU 则果皮退绿延迟, 着色进度明显滞后于对照和 ABA。对处理和对照果皮进行果皮色差分析(图 1-A~D), 结果表明与肉眼观察到的现象一致, 色泽参数 L 值、b 值和  $h^{\circ}$  值随着荔枝果实成熟着色而下降, 而 a 值则随果实着色上升; ABA 处理明显促进果实着色, 同时果皮 L 值、b 值和

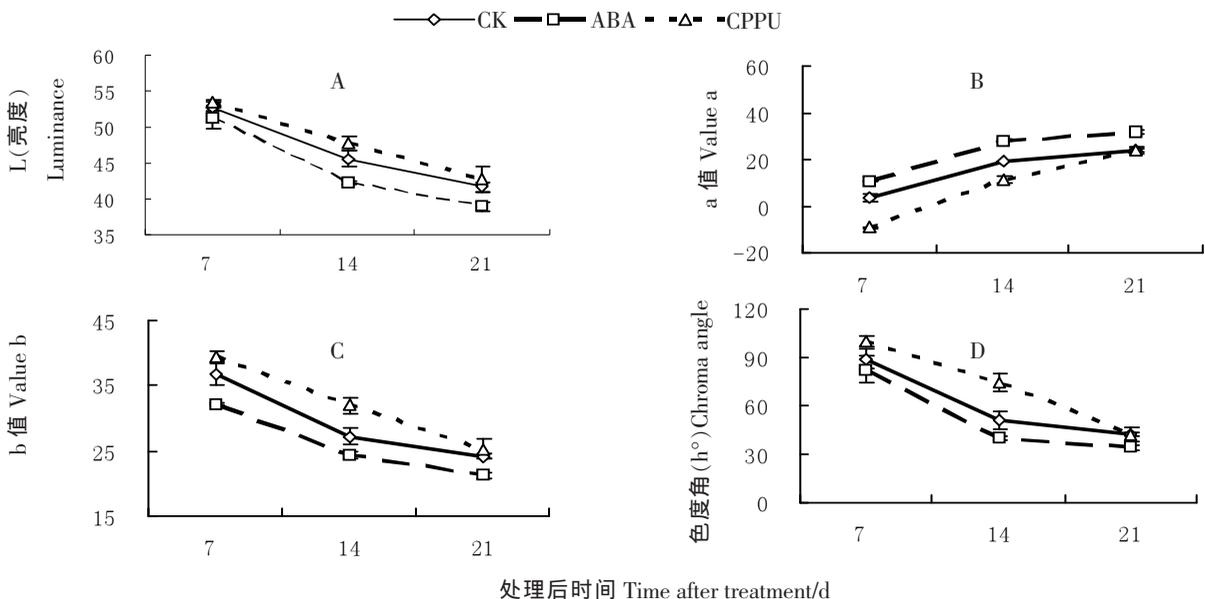


图 1 ABA 和 CPPU 处理对荔枝果皮各色差参数的影响

Fig. 1 Effects of ABA and CPPU treatments on the color parameters in the pericarp of lychee

$h^{\circ}$ 值明显低于对照,  $a$  值则明显高于对照; 喷施 CPPU 明显抑制果实着色, 处理果皮中的  $L$  值、 $b$  值和  $h^{\circ}$  值明显高于对照, 而  $a$  值则明显低于对照; 处理对色泽参数的影响程度随着果实成熟逐渐减小。

### 2.2 不同处理对荔枝果皮色素含量的影响

随着荔枝果实发育成熟, 果皮开始退绿, 果皮中叶绿素含量逐渐降低; CPPU 处理明显延缓了叶绿素的降解, 而 ABA 处理果皮与对照叶绿素含量的差异不明显(图 2-A)。类胡萝卜素的含量随着果实的

成熟呈下降趋势, ABA 和 CPPU 对果皮类胡萝卜素含量的影响无明显规律性(图 2-B)。由图 2-C 可以看出, 荔枝果实采收前, 随着果实成熟度的逐渐增加, 果皮中花色苷的含量也随之增加。ABA 处理后, 果皮花色苷的含量比对照有所增加; 而喷施 CPPU 严重影线了果皮花色苷的积累, 处理 2 周后果皮中的花色苷均明显低于对照和 ABA 处理, 在采前 1 周花色苷含量有一定的增加, 但仍明显低于对照和 ABA 处理。

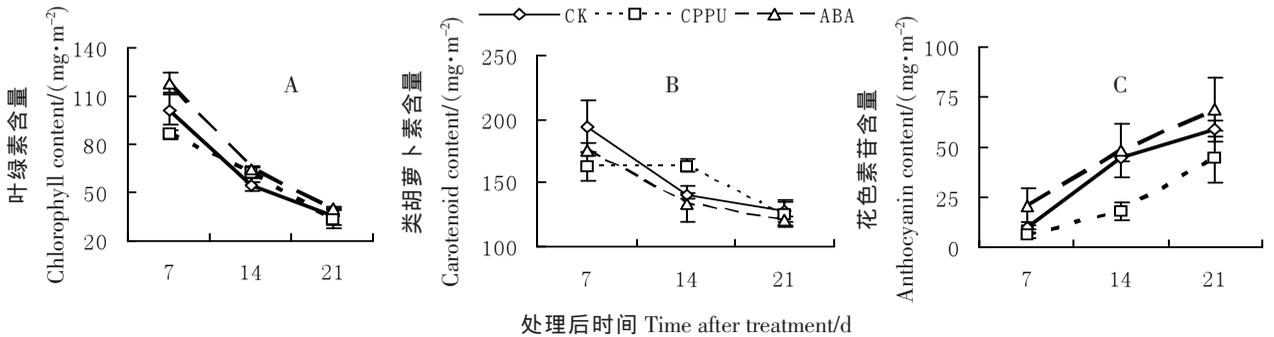


图 2 不同处理对荔枝果皮叶绿素(A)和类胡萝卜素(B)花色苷(C)含量的影响

Fig. 2 Effects of ABA and CPPU treatments on the concentration of chlorophylls (A), carotenoids (B) and Anthocyanins (C) in the pericarp of lychee

### 2.3 不同处理对荔枝果皮花色苷合成相关基因的表达分析

‘桂味’转色前, *LcPAL* 表达量维持在一个较低的水平, 随着果实进入转色期, *LcPAL* 表达量迅速增加, 在处理 14 d 时表达量达到最高峰, 采收时有所下降; ABA 处理后, 荔枝果皮中 *LcPAL* 表达呈直线增加, 直至采收前, 表达量增加了 12 倍左右; 而用 CPPU 处理后, *LcPAL* 表达量增加, 1 周后下降, 2 周后表达水平至最低点, 然后随着果实进入着色期, *LcPAL* 表达量又急剧增加, 整体水平要低于对照和 ABA 处理(图 3-A)。

查尔酮合成酶(CHS)催化香豆酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 形成 4,5,7-三羟黄酮 (Naringenin), 完成了苯丙烷类代谢途径和类黄酮代谢途径的转变, 称之为类黄酮代谢途径的入口酶<sup>[2,11]</sup>。ABA 和 CPPU 处理后, *LcCHS* 迅速大量表达, 随后表现有所不同, ABA 处理荔枝果皮中 *LcCHS* 表达的一直维持在一个较高水平, 而在喷施 CPPU 一周后, *LcCHS* 表达量急剧下降, 采收时又有所回升(图 3-B)。查尔酮异构酶催化由查尔酮生成(2S)-柚皮素(2S-naringenin)的反应; F3H 催化圣草酚、柚皮素、五羟基双氢黄酮 3' 位置的羟基化, 生成二氢黄酮醇, 是位于类黄酮合成

通路分支点处的关键酶<sup>[2,11]</sup>。*LcCHI* (图 3-C)和 *LcF3H*(图 3-E)的在果皮中的表达量变化趋势几乎一致; 用 ABA 和 CPPU 处理后 1 d, *LcCHI* 表达量较低; CPPU 处理后 7 d *LcCHI* 的表达增加了 6.5 倍, 之后迅速下降至较低水平; ABA 处理后果皮中的 *LcCHI* 表达一直增加, 在 2 周后表达量分别达到 CPPU 处理和对照的 26 倍和 1.4 倍, 采收前表达量也高于 CPPU 处理和对照 2 倍以上。

二羟基黄酮醇还原酶 (DFR) 以二氢栎皮黄酮 (DHQ)、二氢堪非醇(DHK)和二氢杨梅黄酮(DHM)为底物催化生成相应的无色花青素、无色花葵素、无色花翠素<sup>[2,11]</sup>。果皮中的 *LcDFR* 表达量变化规律与 *LcF3H*、*LcCHI* 大致相似: 对照果皮中 *LcDFR* 表达量变化与 *LcF3H*、*LcCHI* 基本一致; CPPU 处理后 *LcDFR* 表达量与 *LcF3H* 等基因变化趋势一致, 但变化幅度更大, 处理 1 周后, *LcDFR* 的表达比处理前增加了 17 倍; ABA 处理后, *LcDFR* 的表达随着果实发育不断增加, 采收时高于对照达到最高水平, 整个过程增加了将近 11 倍(图 3-D)。

花色苷合成酶(ANS)作为花色苷合成路径的第 1 个关键酶, 将无色花色苷催化为有色的花青素<sup>[2,11]</sup>。荔枝果皮中 *LcANS* 的表达变化趋势与 *Lc-*

*CHI*、*LcF3H* 和 *LcDFR* 也比较相似,但采收时对照与 ABA 处理的果实中 *LcANS* 表达量相当, CPPU 处理的果实较低; ABA 处理后 14 d 时,荔枝果实 *LcANS* 表达量达到最高值, 21 d 时表达量开始下降(图 3-F)。荔枝果皮中 *LcUFGT* 表达量随着荔枝果实的发育呈

逐渐增加的趋势;处理后,对照和 ABA 处理的果实 *LcUFGT* 表达量呈直线增加,对照采收时略微降低,而 ABA 处理的果实 *LcUFGT* 一直维持在一个较高水平至采收前; CPPU 处理后,果皮中 *LcUFGT* 表达水平较低,采收前 *LcUFGT* 表达量迅速增加(图 3-G)。

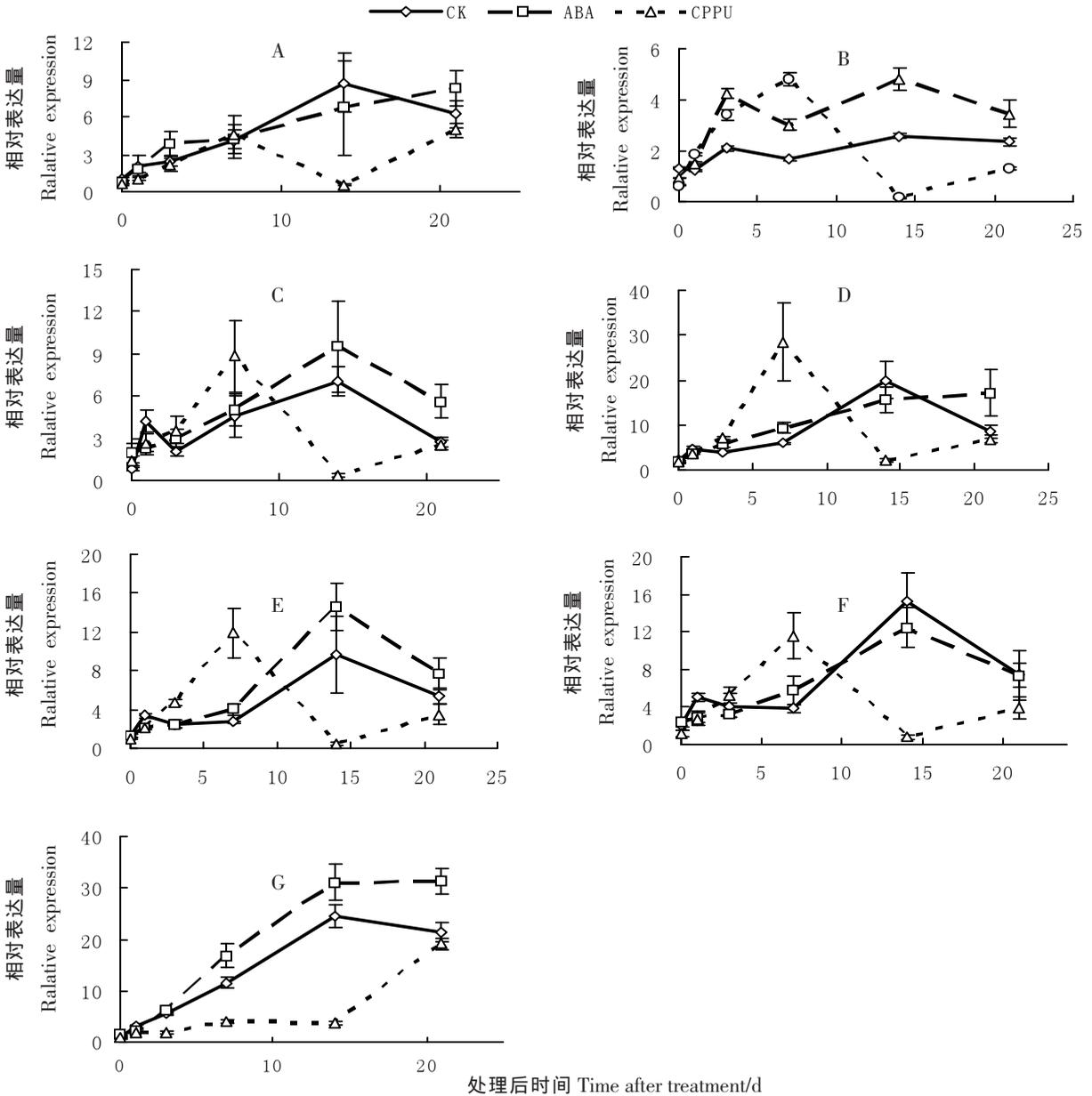


图 3 不同处理对荔枝果皮花色素苷合成相关基因的表达分析

Fig. 3 Effects of ABA and CPPU treatments on the expressions of structural genes in the anthocyanin biosynthetic pathway in the pericarp of lychee

A. *LcPAL*; B. *LcCHS*; C. *LcCHI*; D. *LcDFR*; E. *LcF3H*; F. *LcANS*; G. *LcUFGT*

### 3 讨论

通过色度角等色泽参数和色素含量分析发现: ‘桂味’荔枝果实成熟过程中伴随着色度角下降,叶

绿素下降,花色素苷积累等生理过程(图版,图 1); ABA 处理后,提前了花色素苷的合成时间,增加了花色素苷的积累量,从而提前了荔枝果实的转色时间,这与在葡萄<sup>[17]</sup>上的研究结果一致。在 ‘妃子笑’荔

枝果实发育过程的研究结果表明:果实成熟后期,细胞分裂素维持较低的水平,脱落酸含量升高,基本与花色苷合成一致<sup>[7]</sup>,说明荔枝果实正常的成熟着色可能需要相对较高的 ABA 水平和相对较低的细胞分裂素水平。而前期研究比较了滞绿品种‘妃子笑’和退绿品种‘糯米糍’果皮中 ABA 水平,也发现前者果皮的 ABA 含量明显低于后者<sup>[18]</sup>。Wang 等<sup>[7]</sup>的研究结果明确指出,ABA 主要通过促进花色苷的合成改善荔枝果实着色,ABA 对叶绿素的降解影响不大,细胞分裂素类化学调控剂 6-BA 明显抑制荔枝花色苷合成,同时明显降低处理果皮 ABA 的含量。

CPPU 又名吡效隆或 KT30,是具有细胞分裂素活性的一种苯基脲,具有促进叶绿素的合成,促进细胞分裂,增加细胞体积,延长果实生长发育阶段等生理作用<sup>[18]</sup>。CPPU 处理不影响果实可溶性糖和酸含量,但会降低果实花色苷含量,CPPU 可能抑制花色苷的合成<sup>[19-21]</sup>。在柿上的研究结果表明,CPPU 可以提高柿皮叶绿素含量,延迟果皮退绿;在着色期提高花色苷含量;对类胡萝卜素的含量影响不大<sup>[22]</sup>。本研究结果表明 CPPU 处理后,‘桂味’荔枝果皮中花色苷的合成受到明显抑制,直至采收前 1 周,花色苷合成量才有所增加;CPPU 明显抑制了果实成熟过程中果皮叶绿素和类胡萝卜素的降解。

苯丙氨酸解氨酶(PAL)是花色苷生物合成途径中一系列酶促反应的第 1 个酶,催化苯丙氨酸脱氨形成肉桂酸,是一个限速反应。它是合成花色苷等化合物的起始酶,可以阻止戊糖代谢过程苯丙酮酸与氨结合生成苯丙氨酸,朝向花色苷方向进行<sup>[22-24]</sup>。从 *LcPAL* 表达情况来看,*LcPAL* 表达量随着果实的成熟和色泽的形成逐渐增加;ABA 处理后,果皮 *LcPAL* 表达量与花色苷的含量均明显增加;CPPU 处理后,*LcPAL* 表达量呈现先增加后降低,随后又增加的趋势,但整体变化趋势低于对照和 ABA 处理,这可能由于 CPPU 影响了由 PAL 控制的其他途径。UFGT 是花色苷合成的最后 1 个酶,它使不稳定的花青素转变为稳定的花色苷,研究表明 UFGT 一般在果实接近与成熟的转色期表达,且表达强度与花色苷合成呈正相关<sup>[11]</sup>。从 *LcUFGT* 定量分析结果来看,着色良好的‘桂味’果皮中 *LcUFGT* 的表达量随果实成熟逐渐增加,采收前 1 周达到最大值,随后有所下降;ABA 处理后,*LcUFGT* 的表达量明显增加,采收时达到最大值;CPPU 处理后,*LcUFGT* 的表达受到明显抑制,采收时才有所增加。*LcUFGT* 的表达量与花色苷含量的变化规律高度一致,呈极

显著相关关系,这与 Wei 等<sup>[8]</sup>在“滞绿”型品种‘妃子笑’上的研究结果一致。王惠聪等<sup>[25]</sup>从酶活方面也证明了 UFGT 活性与荔枝果皮花色苷合成关系密切。另外,从花色苷生物合成的其他结构基因的表达情况来看,ABA 和 CPPU 处理对 *LcCHS*、*LcCHI*、*LcF3H*、*LcDFR* 和 *LcANS* 等基因表达无明显的规律性的影响,说明这些基因表达与 ABA 和 CPPU 对荔枝果皮花色苷合成影响的关系不大。

果实着色是一个复杂的分子生物学和细胞生理学过程,由 ABA 等多种内源激素相互影响及协同作用的结果。对于非跃变型果实荔枝,ABA 促进果实着色的效应并非是通过诱导产生乙烯起作用,而可能是 ABA 本身直接起作用,乙烯是否参与花色苷的合成还有待进一步验证。从目前的结果来看 *LcUFGT* 是 ABA 和 CPPU 调控荔枝果皮花色苷合成的一个重要的响应基因,至于如何响应,其信号和传导途径如何,则是目前亟待解决的问题。下一步我们将从 ABA 来源、自我合成、受体与信号转导水平进一步深入研究,为探索 ABA 如何调控非跃变型果实成熟机理研究奠定基础。

## 4 结 论

荔枝果实着色进程中,色度角  $h^{\circ}$  逐渐降低,花色苷含量增加,叶绿素含量降低;ABA 和 CPPU 处理主要通过影响色度角  $h^{\circ}$ 、花色苷含量和叶绿素含量以及 *LcUFGT* 等花色苷生物合成相关基因的表达量,改变了荔枝果实着色;从花色苷生物合成各基因的表达情况来看,在 7 个结构基因中只有 *LcUFGT* 的表达量与花色苷含量密切相关;ABA 处理促进着色同时增加了 *LcUFGT* 的表达量,而 CPPU 明显抑制了着色和 *LcUFGT* 的表达。ABA 可能在荔枝果皮中花色苷生物合成过程中扮演重要的角色。(本文图版见插 2)

### 参考文献 References:

- [1] ZENG Qin, SHEN Yuan-yue, YUAN Hai-bo. The effects of ABA on Non-climacteric fruit ripening[J]. Northern Horticulture, 2012(1): 181-183.  
曾勤,沈元月,袁海波. 脱落酸对非跃变型果实成熟的促进效应[J]. 北方园艺, 2012(1): 181-183.
- [2] ZHANG Shang-long, CHEN Kun-song. Molecular physiology of fruit quality development and regulation[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007: 149-174.  
张上隆,陈昆松. 果实品质形成与调控的分子生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 149-174.
- [3] BAN T, SHIOZAKI S, OGATA T, HORIUCHI S. Effects of abscisic acid and shading treatments on the levels of anthocyanin and resver-

- atrol in skin of Kyoho grape berry[J]. Acta Horticulturae, 2000, 514: 83-89.
- [4] MA Li-na, HUI Zhu-mei, HUO Shan-shan, LUAN Li-ying, GAO Xiang, ZHAO Xiao-lin. Studies on the regulation of anthocyanin biosynthesis in grape berry by brassinosteroid and abscisic acid[J]. Journal of Fruit Science, 2012, 29(5): 830-836.  
马立娜, 惠竹梅, 霍珊珊, 栾丽英, 高翔, 赵晓琳. 油菜素内酯和脱落酸调控葡萄果实花色素苷合成的研究[J]. 果树学报, 2012, 29(5): 830-836.
- [5] REN Jie, LENG Ping. Role of abscisic acid and ethylene in fruit maturation of sweet cherry[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2010, 37(2): 199-206.  
任杰, 冷平. ABA 和乙烯与甜樱桃果实成熟关系[J]. 园艺学报, 2010, 37(2): 199-206.
- [6] NIU S S, XU C J, ZHANG WS, ZHANG B, LI X, WANG L K, FERGUSON I B, ALLAN A C, Chen K S. Coordinated regulation of anthocyanin biosynthesis in Chinese bayberry (*Myrica rubra*) fruit by a R2R3 MYB transcription factor[J]. Planta, 2010, 231(4): 887-899.
- [7] WANG H C, HUANG H B, HHUANG X M. Differetial effects of abscisic acid and ethylene on the fruit maturation of *Litchi chinensis* Sonn[J]. Plant Growth Regulation, 2007, 52: 189-198.
- [8] WEI Y Z, HU F C, HU G B, LI X J, HUANG X M, WANG H C. 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.
- [9] KATAOKA I, KUSUNOKI R, INOUE H. Effect of abscisic acid on anthocyanin accumulation and sugar content in berry skin of grapes [J]. Journal of Japanese Society for Horticultural Science, 1992, 61: 84-85.
- [10] CHENG Hai-yan, LI De-hong. Progress in effects of light, saccharide and hormones on the anthocyanin synthesis and accumulation in plants[J]. Subtropical Plant Science, 2010, 39(3): 82-86.  
程海燕, 李德红. 光、糖与激素影响植物花色素苷合成与积累的研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2010, 39(3): 82-86.
- [11] ZHAO Qi-ming, LI Fan, LI Ping. Research advances on core enzymes of anthocyanidin biosynthesis[J]. Biotechnology Bulletin, 2012(12): 25-31.  
赵启明, 李范, 李萍. 花青素生物合成关键酶的研究进展[J]. 生物技术通报, 2012(12): 25-31.
- [12] McGUIRE R G. Reporting of objective colour measurements [J]. HortScience, 1992, 27: 1254-1255.
- [13] VOSS D H. Relating colorimeter measurement of plant colour to the Royal Horticultural society colour chart[J]. HortScience, 1992, 27: 1256-1260.
- [14] FULEKI T, FRANCIS F J. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice[J]. Journal Food Science, 1968, 33: 78-83.
- [15] AMON D I. Copper enzymes in isolated chlloplasts. Polyphenoxidase in Beta vulgaris[J]. Plant Physiology, 1949, 24: 1-5.
- [16] LIVAK K J, SCHMITTEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  methods[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [17] CAO Mu-ming, BAI Xian-jin, LI Yang-ru, XIE Tai-li, WEN Ren-de, LIU Jin-biao. Effect of abscisic acid on the color and fruit quality of Kyoho grape[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010(2): 111-113.  
曹慕明, 白先进, 李杨瑞, 谢太理, 文仁德, 刘金标. 脱落酸对巨峰葡萄着色和果实品质的影响[J]. 广东农业科学, 2010(2): 111-113.
- [18] HU Gui-bing, GAO Fei-fei, CHEN Da-cheng, LI Ping, WANG Wei-hua, ZHAN Yin-biao. Studies on the changes in pigment, phenolic content and endogenous hormones after debagging of litchi fruit [J]. Journal of South China Agricultural University, 2001, 22(1): 31-34.  
胡桂兵, 高飞飞, 陈大成, 李平, 王卫华, 詹银表. 套袋对荔枝果皮中的色素、酚类物质和内源激素的影响[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(1): 31-34.
- [19] CHEN Jian-zhong, ZHANG Gu-xiong, ZHANG Zhen. Effect of CPPU on fruit quality of Owari Unshu[J]. Journal of fruit science, 2002, 19(2): 139-140.  
陈建中, 张谷雄, 章镇. CPPU 对温州蜜柑着果和果实品质的影响[J]. 果树学报, 2002, 19(2): 139-140.
- [20] HAN D H, LEE C H. The effects of GA<sub>3</sub>, CPPU and ABA applications on the quality of Kyoho (*Vitis vinifera* L.  $\times$  *V. labrusca* L.) grape[J]. Acta Horticulturae, 2004, 653: 193-197.
- [21] YANG Gang. Studies on variation affecting factors of the fruit pigments in the 'red-sun' kiwifruit[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2011: 55-56.  
杨刚. 红阳猕猴桃果实色素变化规律和影响因素的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2011: 55-56.
- [22] FAN Guo-rong, LIU Yong, LIU Shan-jun, LUO Lai-shui. Influence of CPPU on fruit size and pericarp pigment in non-astringent persimmon[J]. Acta Horticulturae Universitatis Jiangxiensis, 2004, 26(5): 754-758.  
范国荣, 刘勇, 刘善军, 罗来水. CPPU 对甜柿果实大小与果皮色素含量的影响[J]. 江西农业大学学报, 2004, 26(5): 754-758.
- [23] WANG H, ARAKAWA O, MOTOMURA Y. Influence of maturity and bagging on the relationship between anthocyanin accumulation and phenylalanine ammonialyase(PAL) activity in 'Jonathan' apples[J]. Postharvest Biology and Technology, 2000, 19: 123-128.
- [24] ZHOU Hui, WEN Jin-fen, DENG Ming-hua, ZHU Hai-shan. Research progress in plant anthocyanidin biosynthesis genes[J]. Journal of China Capsisum, 2011(4): 1-7.  
周惠, 文锦芬, 邓明华, 朱海山. 植物花青素生物合成相关基因研究进展[J]. 辣椒杂志, 2011(4): 1-7.
- [25] WANG Hui-cong, HUANG Xu-ming, HU Gui-bing, HUANG Hui-bai. Studies on the relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes in litchi pericarp[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37(12): 2028-2032.  
王惠聪, 黄旭明, 胡桂兵, 黄辉白. 荔枝果皮花青苷合成与相关酶的关系研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 2028-2032.

魏永赞等：脱落酸和吡效隆对荔枝果皮着色的影响 图版

(正文见653~659页)

WEI Yong-zan et al: Effect of abscisic acid and CPPU on the coloration of lychee pericarp Plates



图版说明

最后采样点(处理后21 d)对照、CPPU和ABA处理果实的外观

Explanation of plates

Fruit appearance of control and CPPU and ABA treatments on the last sampling date (21 days after treatment)

张开春等：斑翅果蝇 (*Drosophila suzukii*) 研究现状 图版

(正文见717~721页)

ZHANG Kai-chun et al: Research review on spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) Plates



图版说明

A. 斑翅果蝇雄虫; B. 触角芒; C. 雄蝇跗栉; D. 雌蝇产卵器

Explanation of plates

A. Male spotted wing drosophila; B. Antennae; C. Combs on feet of males; D. Female ovipositor