

# 葡萄中调控果皮颜色相关基因的研究进展

苏玲, 杨阳, 王鹏飞, 张加魁\*, 杨丽英\*, 王咏梅, 任凤山 (山东省葡萄研究院, 山东济南 250100)

**摘要** 果皮颜色是影响葡萄及葡萄酒品质的重要指标之一,也是果实成熟过程中最明显的变化之一。类黄酮物质,特别是花色苷的合成对果实颜色具有至关重要的作用,它们的合成受到结构基因和调节基因的控制。从花色苷的生物合成途径展开,阐述了结构基因的种类、表达特性,调节基因的所属家族、调节特点等方面,特别介绍了 *MYB* 基因家族对结构基因的调控,以期对葡萄的颜色合成机理研究提供理论依据。

**关键词** 葡萄;果皮颜色;花色苷;结构基因;调节基因

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)02-0019-04

## Research Advance of the Genes Related to the Color of Grape Berry Skin

SU Ling, YANG Yang, WANG Peng-fei et al (Shandong Academy of Grape, Jinan, Shandong 250100)

**Abstract** The skin color is not only one of the important indexes affecting the quality of grape and wine, but also one of the most obvious changes in fruit ripening process. The synthesis of flavonoids, especially anthocyanin, which is vital to the color of grape berry, is controlled by structural genes and regulatory genes. This paper started with the biosynthesis pathway of anthocyanin, elaborating the types and features of structure genes, families and regulation characteristics of regulatory genes, specially introduced the *MYB* gene family regulating structural gene in order to provide theoretical basis for the grape color synthetic mechanism.

**Key words** Grape; Berry skin color; Anthocyanin; Structural genes; Regulatory genes

葡萄是葡萄科葡萄属落叶藤本植物,是主要的栽培果树品种之一。随着葡萄不同品种间的杂交和人工选择,果皮颜色的种类也越来越丰富。果皮颜色是影响葡萄及葡萄酒品质的重要指标之一,也是果实成熟过程中变化最明显的指标之一。类黄酮物质,如花色苷和黄酮醇,都对果皮和葡萄酒的颜色至关重要,并且可提高两者的感官品质<sup>[1-2]</sup>。类黄酮物质是植物次生代谢过程中的重要产物,广泛存在于果实、花和叶片等器官中。它不仅在植物抵御紫外线、病原菌等伤害时具有至关重要的作用,而且能够增加对授粉昆虫的吸引力<sup>[3-4]</sup>。此外,前人研究结果表明类黄酮物质还具有极强的抗氧化能力,可以预防心血管疾病和消除自由基<sup>[3]</sup>。

葡萄果皮颜色主要是由花色苷的比例所决定的,不同品种间花色苷类型不同,而且花色苷含量也有极大差异<sup>[5-6]</sup>。花色苷作为分子结构复杂的物质,是同时具有酸性基团和碱性基团的高分子共轭体系,它的生物合成与积累除受遗传特性、糖积累水平、激素水平、成熟期等内部因素的影响外<sup>[7-8]</sup>,还受光照、温度、水分、土壤及栽培管理措施等外部环境因素的影响<sup>[9-13]</sup>。人们通过对玉米、金鱼草和矮牵牛等物种中花色苷的生物合成和调控机理的研究,对植物花色苷有了较多的认识。在此基础上,研究者对葡萄花色苷的生物合成和调控研究也取得了较大的进展,通过对调控果皮颜色的相关基因的阐述,能够更加了解葡萄果皮中物质的代谢机理,以期对葡萄的开发利用和育种提供依据与工作基础。

## 1 葡萄花色苷生物合成途径

葡萄中花色苷主要的合成部位是在表皮细胞的细胞质

中,经一系列运输途径最终在液泡中积累<sup>[14]</sup>。花色苷的生物合成在一系列酶催化下完成,整个过程中涉及 20 多步反应<sup>[15]</sup>,它也是植物体类黄酮途径的分支之一,与原花青素 (proanthocyanidins) 和类黄酮醇 (flavonol) 的合成拥有共同的上游途径<sup>[16]</sup>。花色苷的合成途径主要有以下几个阶段:第一阶段是苯丙氨酸代谢途径,它是由苯丙氨酸转化为香豆酰 CoA,参与的酶有苯丙氨酸裂解酶 (PAL)、肉桂酸羟化酶 (C4H) 和香豆酰 CoA 连接酶 (4CL) 等,此途径是很多次生代谢共有的;第二阶段为类黄酮途径<sup>[16]</sup>,由香豆酰 CoA 转化为黄酮类物质,此途径主要在查尔酮合成酶 (CHS)、异构酶 (CHI)、烷酮-3-羟化酶 (F3H)、烷酮醇还原酶 (DFR)、氢黄酮醇还原酶 (DFR) 和无色花色素双加氧酶 (LDOX) 等的催化下完成 (图 1)。经过上述 2 个阶段的反应,花色素的合成骨架基本形成,再经过甲基化、酰基化等修饰作用后,可以形成不同结构的花色苷。最后,内质网中的花色苷在谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 作用下与谷胱甘肽结合,经跨膜运输到液泡积累<sup>[2,4,15,17-18]</sup>。

目前研究发现,类黄酮生物合成有 2 类基因参与:一类是编码反应途径中各种酶的结构基因;另一类是控制结构基因表达的调节基因<sup>[1]</sup>。

## 2 编码反应途径中各种酶的结构基因

目前在葡萄类黄酮生物合成途径中主要有以下几种结构基因 (表 1)。

**2.1 PAL 基因** 编码苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, PAL)。在葡萄中, PAL 成员有 15~20 个<sup>[19]</sup>。它在葡萄的各个组织器官中均有表达,不具有组织特异性,但是不同品种间差异较大,在有色果实中均有表达<sup>[20-21]</sup>。葡萄果实发育过程中, PAL 在果皮中的表达具有时空特异性,花后 15~30 d 表达量很高,之后表达减弱或不表达,在果实成熟时表达量最高<sup>[20,22]</sup>。

**2.2 CHS 基因** 编码查尔酮合成酶 (chalcone synthase,

**基金项目** 山东省农业重大应用技术创新项目“山东葡萄酒地标性品种开发与关键技术集成应用”(2016)、“特色酒用葡萄产期精准调控与产品创新研究应用”(2017)。

**作者简介** 苏玲(1988—),女,山东莱芜人,农艺师,博士,从事果树分子生物学与生物技术研究。\*通讯作者,张加魁,高级农艺师,从事葡萄栽培与病虫害防治研究;杨丽英,农艺师,从事葡萄栽培研究。

**收稿日期** 2017-10-30

CHS),是最先被克隆的类黄酮合成基因,目前在“赤霞珠”葡萄中已经分离得到3个CHS基因,分别为CHS1、CHS2及CHS3。生物信息学研究表明CHS1和CHS2有较近的进化关系,但是CHS3与二者进化关系较远<sup>[17]</sup>。在葡萄的组织和器官中,不同的CHS家族成员的表达模式也不尽相同,CHS1和CHS2在葡萄叶片和果皮中都能检测到它们的表达,但是

CHS3主要在葡萄转色后的果皮中特异表达<sup>[8,17]</sup>。此外,也有研究表明,在转色后CHS2也有表达,但是未检测到CHS1的表达<sup>[23]</sup>。一些学者认为CHS是花色苷形成的真正开始,是进入黄酮类合成途径的第一个限速酶,它在果实生长发育过程中一直保持着较高的活性<sup>[14,23-24]</sup>。

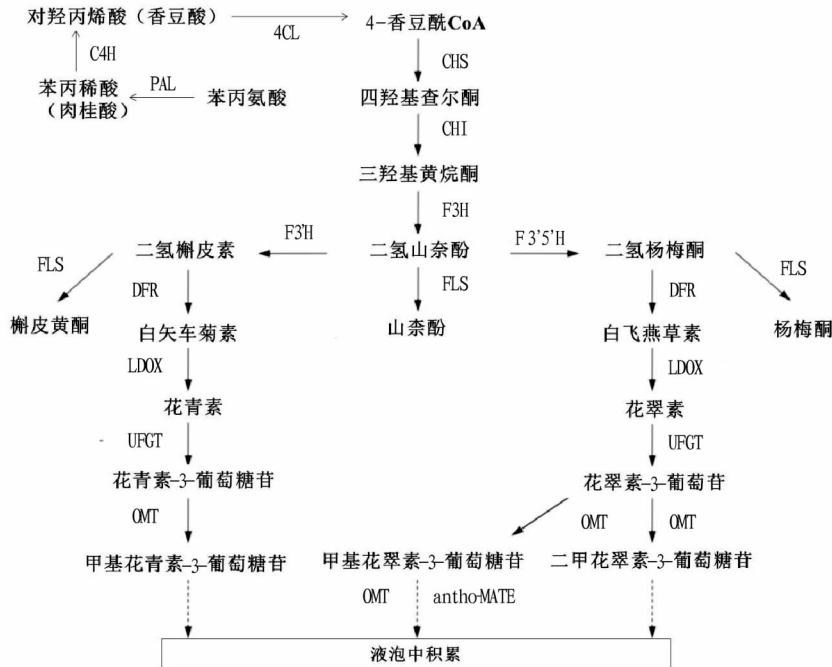


图1 类黄酮合成途径

Fig. 1 Biosynthetic pathway of flavonoid

**2.3 CHI 基因** 编码查尔酮异构酶(chalcone isomerase, CHI),在葡萄中,已发现的CHI基因序列是CHI1和CHI2<sup>[23]</sup>。试验结果表明,CHI在葡萄的不同组织和器官中都能检测到表达,表达模式表现为非组织特异性,同时检测其在果实发育过程中的表达特性,发现表达量为先上升后下降后又上升的趋势,具体表现为花后15~30d表达量上升,随后减弱,到葡萄转色期表达又加强<sup>[20]</sup>。

**2.4 F3H 基因** 编码黄酮3-羟基酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H),在植物中,F3H既可以独立表达,又可以与其他结构基因协同表达。葡萄中F3H位于4号染色体上,主要在花后14~28d的果皮中表达,表达规律基本表现为先加强再减弱,至转色后再加强<sup>[20,25]</sup>,并且研究结果表明其在红色品种成熟的果皮中表达高于白色品种<sup>[17]</sup>。F3H分别和F3'H(flavonoid 3'-hydroxylase, F3'H)、F3'5'H(flavanone 3', 5'-hydroxylase, F3'5'H)参与调控花色苷合成的2个分支。F3'H和F3'5'H分别属于P450的CYP75B和CYP75A家族。在葡萄中存在4个F3'H基因,Southern试验证明了它们为2对等位基因<sup>[26]</sup>。葡萄中F3'H和F3'5'H的表达模式存在较大的差异,但都具有时空表达特异性。F3'H的表达贯穿整个葡萄发育过程,高峰期为转色前,而F3'5'H仅在有色葡萄品种的果实成熟期表达,且发育早期表达微弱<sup>[2,14,26]</sup>。

**2.5 DFR 基因** 编码黄酮醇-4-还原酶(dihydroflavonol

4-reductase, DFR),它在葡萄中是单拷贝的基因<sup>[27]</sup>。在葡萄中,DFR的表达不仅具有品种特异性,而且有很强的组织特异性,有色品种中的表达量显著高于无色品种,营养组织(如叶片)的表达量很高,但是在果皮中表达相对较低,在整个生长发育周期中,表现为早期表达量上升,随后下降,到转色后又再次上升的趋势<sup>[2,14,20]</sup>。

**2.6 LDOX 基因** 编码无色花色素双加氧酶(leucoanthocyanidin dioxygenase, LDOX),LDOX和DFR基因类似,也是单基因拷贝,并具有组织特异性,在根尖、叶片、花和种子中表达量较高,果实中较低,但其发育期间的表达量也遵循先上升后降低,转色后再上升的表达模式<sup>[2,20]</sup>。此外,LDOX的表达水平受光、Ca<sup>2+</sup>及蔗糖等因素的影响较大<sup>[28]</sup>。

**2.7 UFGT 基因** 编码类黄酮3-O-葡萄糖基转移酶(UDP glucose-flavonoid 3-O-glucosyltransferase, UFGT),又被称为3GT或5GT,被认为是葡萄果皮花色苷生物合成途径中最关键的酶,分析发现欧亚种葡萄只含有3GT,而其他种群葡萄还包含5GT<sup>[27,29-30]</sup>。UFGT作为葡萄果实颜色形成的关键基因,已被研究得较为透彻,是目前已知的与转录调控最直接相关的结构基因。研究结果表明,它虽然在有色葡萄果实成熟期的果皮中特异表达,但是其转录和翻译除了受基因型和生理状态等内部因素的影响,外界环境如光照、温度等对其表达也有很大的影响<sup>[2,14,17,20,25]</sup>。

**2.8 OMT 基因** 编码 O - 甲基转移酶(O - methyltransferase, OMT), 对 OMT 表达的研究发现, 其表达量与花色苷的含量呈正相关, 在果实转色前没有表达, 转色后开始有表达<sup>[1,14]</sup>。

**2.9 GST 基因** 编码谷胱甘肽 S - 转移酶(glutathione S-transferase, GST), 它是启动谷胱甘肽结合反应的关键酶。葡萄果实发育过程中, 主要在转色后的果皮中<sup>[30]</sup>。此外, 还发现 GST 的表达量在水分胁迫环境中明显上升<sup>[1,14]</sup>。除 GST 外, 一些多药抗药性的相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)和多药有毒化合物排出家族(multidrug and toxic compound extrusion, MATE)也参与了花色苷的转运<sup>[31-32]</sup>。在葡萄中, 关于花色苷合成后的转运是近年研究者关注的难点和热点。

目前, 研究发现 MATE 基因 AM1、AM2 和 AM3 成员参与花色苷的转运, 也有报道指出 ABC 转运蛋白可能也参与花色苷的运输<sup>[33-34]</sup>。葡萄果实的颜色, 一方面是由花色苷合成决定的, 另一方面是由花色苷被有效地运输到液泡积累量所决定的。在葡萄中, 关于花色苷合成后分子转运机制的研究较少, 还需要进一步研究。

表 1 葡萄花色苷生物合成途径的结构基因

Table 1 Structure genes of anthocyanin biosynthesis pathway in grape

基因名称 Gene name	GenBank 登录号 GenBank ID	参考文献 References
PAL	EF192469	Kobayashi 等 <sup>[21]</sup>
CHS1	AB015872	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
CHS2	AB066275	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
CHS3	AB066274	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
CHI1	X75963	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
CHI2	TC517784	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
F3H1	X75965	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
F3H2	TC45490	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
F3'H	AB213605	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
F3'5'H	AB213606	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
DFR	X75964	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
LDOX	X75966	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
UFGT	AF000372	Jeong 等 <sup>[23]</sup>
OMT	FJ460168	Azuma 等 <sup>[35]</sup>
GST	RT043D09	Terrier 等 <sup>[36]</sup>
antho - MATE	FJ264202	Cutanda - Perez 等 <sup>[37]</sup>

### 3 控制结构基因表达的调节基因

调节基因的作用机理是与结构基因上游的识别区域结合, 调控其表达水平, 以此启动或调控花色苷合成的各个途径<sup>[38-39]</sup>。目前的研究结果表明, 调控基因的类型主要是几种编码转录因子蛋白的基因家族, 例如 MYB、bHLH、WD40、WRKY、锌指(zinc finger)和同源异形结构域(homeodomain)等<sup>[4,16,40-42]</sup>。前人研究也表明, 调节基因在黄酮醇和原花青素的合成过程中也发挥着重要作用<sup>[8,16,43]</sup>。研究者对调节基因的观点有很多, 一些研究者把调节基因分为 2 类: 一类是调节 PAL、CHS、CHI、F3H、DFR、LDOX 等结构基因的转录, 它们的表达主要在果实发育早期; 而另一类是促进 UFGT 等结构基因转录, 它们的表达主要在成熟期。另一些研究者认为

2 类调节基因分别是特异地调节 UFGT 在果实发育晚期表达和调节除 UFGT 以外的基因表达的基因<sup>[20,44]</sup>。

对葡萄、白杨和苹果等很多木本植物的研究表明 MYB 调控花色苷的生物合成。在葡萄中, 调控花色苷生物合成的 MYBA 类基因已经被鉴定出来, 酿酒葡萄(*Vitis vinifera*)存在 *VvMYBA1*、*VvMYBA2*, 然而, *Vitis × labruscana* 基因组有 *VlMYBA1 - 2*、*VlMYBA1 - 3* 和 *VlMYBA2* 这 3 个功能性的基因<sup>[35,45]</sup>。研究表明 *MYBF1* 与 *FLS* 表达密切相关。此外, 大量的研究表明 *MYB5a*、*MYB5b*、*MYBPA1* 和 *MYBPA2* 也是参与调节花色苷生物合成途径的基因<sup>[36,44,46-47]</sup>(表 2)。

表 2 葡萄 MYB 转录因子基因及其所调节基因

Table 2 MYB-related genes and regulated genes in grape

家族 Family	位点 Locus	调节基因 Regulated genes	GenBank 登录号 GenBank ID	参考文献 References
MYBA	<i>VlmybA1 - 1</i>	<i>UFGT</i>	AB073010	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
	<i>VlmybA1 - 2</i>	<i>UFGT</i> 、 <i>OMT</i> 、 <i>GST</i>	AB073012	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
	<i>VlmybA1 - 3</i>	<i>UFGT</i>	AB427165	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
	<i>VlmybA2</i>	<i>UFGT</i>	AB073013	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
	<i>VmybA1</i>	<i>UFGT</i>	AB097923	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
	<i>VmybA2</i>	<i>UFGT</i>	AB097924	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
	<i>VmybA2r</i>	<i>UFGT</i>	DQ886419	Walker 等 <sup>[48]</sup>
	<i>VmybA2w</i>	不详	DQ886420	Walker 等 <sup>[48]</sup>
	<i>VmybA3</i>	不详	AB097925	Koybayashi 等 <sup>[21]</sup>
	MYBB	<i>VlmybB1 - 1</i>	不详	AB073016
<i>VlmybB1 - 2</i>		不详	AB073017	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
MYBC	<i>VlmybC</i>	不详	AB073014	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
MYBD	<i>VlmybD</i>	不详	AB073015	Koybayashi 等 <sup>[22]</sup>
其他 MYB	<i>Vmyb5a</i>	<i>CHS</i> 、 <i>CHI</i> 、 <i>F3H</i> 、 <i>DFR</i> 、 <i>LDOX</i>	AY555190	Deluc 等 <sup>[44]</sup>
	<i>Vmyb5b</i>	不详	AY899404	Deluc 等 <sup>[44]</sup>
	<i>VvMYBF1</i>	<i>CHS</i> 、 <i>CHI</i> 、 <i>FLS</i>	GQ423422	Czemmel 等 <sup>[16]</sup>
	<i>VmybPA1</i>	<i>CHI</i> 、 <i>F3'5'H</i> 、 <i>ANR</i> 、 <i>LAR</i>	AM259485	Bogs 等 <sup>[46]</sup>

研究表明除 MYB 外, bHLH、WD40 也是调节花色苷生物合成主要的转录因子。前人的研究证明 bHLH 不仅可直接调节 DFR 表达, 而且能和 MYB 互作共同促进花色色素积累<sup>[49]</sup>。有报道指出 bHLH 家族的基因成员 *VvMYC1* 调节花色苷的生物合成<sup>[37]</sup>。另外, WD40 的克隆和功能验证试验证明其参与葡萄果实的着色, 并发现其在有色葡萄中特异表达<sup>[1]</sup>。

### 4 结语

由于葡萄的生物学特异性和巨大的经济价值, 其一直受到研究者的关注。葡萄果皮颜色对葡萄的加工、市场价值和经济效益具有决定性作用, 因此研究葡萄花色苷生物合成过程中的相关基因具有重要的意义。借助于先进的研究技术, 葡萄花色苷生物合成和调控机理的研究已经显著提高。葡萄果皮中多种不同结构的花色苷已被鉴定。花色苷生物合成过程中涉及的多个结构基因已被详尽地介绍。一系列的转录因子(包括 MYB 家族)已被报道特异地调节花色苷合成的结构基因。然而, 关于葡萄果皮花色苷的合成和调控还有许多未解之谜, 如花色苷胞内运输机制、调节花色苷特异积

累时期的特殊机制及花色苷和原花色苷的遗传调控机理等。目前,葡萄基因组序列已经测序完成,随着各种组学(转录组、代谢组等)研究的开展,葡萄果皮花色苷合成过程中的各类基因将得到进一步的研究。

### 参考文献

- [1] AGEORGES A, FERNANDEZ L, VIALET S, et al. Four specific isogenes of the anthocyanin metabolic pathway are systematically co-expressed with the red colour of grape berries[J]. *Plant science*, 2006, 170(2): 372–383.
- [2] BOGS J, EBADI A, MCDONALD D, et al. Identification of the flavonoid hydroxylases from grapevine and their regulation during fruit development[J]. *Plant physiology*, 2006, 140(1): 279–291.
- [3] HARBORNE J B, WILLIAMS C A. Advances in flavonoid research since 1992[J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(6): 481–504.
- [4] KOES R, VERWEIJ W, QUATTROCCHIO F. Flavonoids: A colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways[J]. *Trends in plant science*, 2005, 10(5): 236–242.
- [5] KENNEDY J A, MATTHEWS M A, WATERHOUSE A L. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids[J]. *American journal of enology and viticulture*, 2002, 53(4): 268–274.
- [6] WANG W, TANG K, YANG H R, et al. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation[J]. *Plant physiology and biochemistry*, 2010, 48(2): 142–152.
- [7] BRAR H S, SINGH Z, SWINNEY E. Dynamics of anthocyanin and flavonol profiles in the 'Crimson Seedless' grape berry skin during development and ripening[J]. *Scientia horticulturae*, 2008, 117(4): 349–356.
- [8] HE F, MU L, YAN G L, et al. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes[J]. *Molecules*, 2010, 15(12): 9057–9091.
- [9] AZUMA A, YAKUSHIJI H, KOSHITA Y, et al. Flavonoid biosynthesis-related genes in grape skin are differentially regulated by temperature and light conditions[J]. *Planta*, 2012, 236(4): 1067–1080.
- [10] BERGQVIST J, DOKOOZLIAN N, EBISUDA N. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California[J]. *American journal of enology and viticulture*, 2001, 52(1): 1–7.
- [11] MORI K, GOTO-YAMAMOTO N, KITAYAMA M, et al. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature[J]. *Journal of experimental botany*, 2007, 58(8): 1935–1945.
- [12] PALLIOTTI A. A new closing Y-shaped training system for grapevines[J]. *Australian journal of grape and wine research*, 2012, 18(1): 57–63.
- [13] PASTORE C, ZENONI S, FASOLI M, et al. Selective defoliation affects plant growth, fruit transcriptional ripening program and flavonoid metabolism in grapevine[J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13(1): 30.
- [14] CASTELLARIN S D, MATTHEWS M A, DI GASPERO G, et al. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries[J]. *Planta*, 2007, 227(1): 101–112.
- [15] ZHANG X Y, WANG X L, WANG X F, et al. A shift of phloem unloading from symplasmic to apoplasmic pathway is involved in developmental onset of ripening in grape berry[J]. *Plant physiology*, 2006, 142(1): 220–232.
- [16] CZEMMEL S, HEPPEL S C, BOGS J. R2R3 MYB transcription factors: Key regulators of the flavonoid biosynthetic pathway in grapevine[J]. *Protoplasma*, 2012, 249(2): 109–118.
- [17] GOTO-YAMAMOTO N, WAN G H, MASAKI K, et al. Structure and transcription of three chalcone synthase genes of grapevine (*Vitis vinifera*) [J]. *Plant science*, 2002, 162(6): 867–872.
- [18] KOES R, VERWEIJ W, QUATTROCCHIO F. Flavonoids: A colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways[J]. *Trends in plant science*, 2005, 10(5): 236–242.
- [19] GIVEN N K, VENIS M A, GRIERSON D. Phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis in ripening strawberry fruit[J]. *Journal of plant physiology*, 1988, 133(1): 25–30.
- [20] BOSS P K, DAVIES C, ROBINSON S P. Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation[J]. *Plant physiology*, 1996, 111(4): 1059–1066.
- [21] KOBAYASHI S, GOTO-YAMAMOTO N, HIROCHIKA H. Retrotransposon-induced mutations in grape skin color[J]. *Science*, 2004, 304(5673): 982.
- [22] KOBAYASHI S, ISHIMARU M, HIRAOKA K, et al. Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis[J]. *Planta*, 2002, 215(6): 924–933.
- [23] JEONG S T, GOTO-YAMAMOTO N, KOBAYASHI S, et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins[J]. *Plant science*, 2004, 167(2): 247–252.
- [24] HONDA T, SAITO N. Recent progress in the chemistry of polyacylated anthocyanins as flower color pigments[J]. *Heterocycles*, 2002, 56(1/2): 633–692.
- [25] CASTELLARIN S D, DI GASPERO G, MARCONI R, et al. Colour variation in red grapevines (*Vitis vinifera* L.): Genomic organisation, expression of flavonoid 3'-hydroxylase, flavonoid 3',5'-hydroxylase genes and related metabolite profiling of red cyanidin-/blue delphinidin-based anthocyanins in berry skin[J]. *BMC Genomics*, 2006, 7(1): 12.
- [26] JEONG S T, GOTO-YAMAMOTO N, HASHIZUME K, et al. Expression of the flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3',5'-hydroxylase genes and flavonoid composition in grape (*Vitis vinifera*) [J]. *Plant science*, 2006, 170(1): 61–69.
- [27] SPARVOLI F, MARTIN C, SCIENZA A, et al. Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Plant molecular biology*, 1994, 24(5): 743–755.
- [28] GOLLOP R, EVEN S, COLOVA-TSOLOVA V, et al. Expression of the grape dihydroflavonol reductase gene and analysis of its promoter region[J]. *Journal of experimental botany*, 2002, 53(373): 1397–1409.
- [29] FLAMINI R, TOMASI D. The anthocyanin content in berries of the hybrid grape cultivars Clinton and Isabella[J]. *Vitis*, 2009, 39(2): 79–82.
- [30] LIANG Z C, WU B H, FAN P G, et al. Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm[J]. *Food chemistry*, 2008, 111(4): 837–844.
- [31] ZHAO J, DIXON R A. The 'ins' and 'outs' of flavonoid transport[J]. *Trends in plant science*, 2010, 15(2): 72–80.
- [32] ZHAO L, YAGIZ Y, XU C, et al. Muscadine grape seed oil as a novel source of tocotrienols to reduce adipogenesis and adipocyte inflammation[J]. *Food & function*, 2015, 6(7): 2293–2302.
- [33] KLEIN J. The grapes of incompatibility[J]. *Developmental cell*, 2006, 10(1): 2–4.
- [34] FRANCISCO R M, REGALADO A, AGEORGES A, et al. ABC1, an ATP binding cassette protein from grape berry, transports anthocyanidin 3-O-glucosides[J]. *The plant cell online*, 2013, 25(5): 1840–1854.
- [35] AZUMA A, KOBAYASHI S, MITANI N, et al. Genomic and genetic analysis of *Myb*-related genes that regulate anthocyanin biosynthesis in grape berry skin[J]. *Theoretical and applied genetics*, 2008, 117(6): 1009–1019.
- [36] TERRIER N, TORREGROSA L, AGEORGES A, et al. Ectopic expression of VvMybPA2 promotes proanthocyanidin biosynthesis in grapevine and suggests additional targets in the pathway[J]. *Plant physiology*, 2009, 149(2): 1028–1041.
- [37] CUTANDA-PEREZ M C, AGEORGES A, GOMEZ C, et al. Ectopic expression of VvmybA1 in grapevine activates a narrow set of genes involved in anthocyanin synthesis and transport[J]. *Plant molecular biology*, 2009, 69(6): 633–648.
- [38] HICHRI I, BARRIEU F, BOGS J, et al. Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway[J]. *Journal of experimental botany*, 2011, 62(8): 2465–2483.
- [39] TIAN Q G, GIUSTI M M, STONER G D, et al. Screening for anthocyanins using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry with precursor-ion analysis, production analysis, common-neutral-loss analysis, and selected reaction monitoring[J]. *Journal of chromatography A*, 2005, 1091(1/2): 72–82.
- [40] HICHRI I, HEPPEL S C, PILLET J, et al. The basic helix-loop-helix transcription factor MYC1 is involved in the regulation of the flavonoid biosynthesis pathway in grapevine[J]. *Molecular plant*, 2010, 3(3): 509–523.
- [41] HOLTON T A, CORNISH E C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis[J]. *The plant cell*, 1995, 7(7): 1071–1083.

上实现烟农增收,从该试验数据可以看出,2种一次性采收模式,杂色烟叶比例降低,不同叶位初烤烟叶均价提高。

表5 不同采收模式烟叶评吸质量

Table 5 Evaluation on smoking quality of tobacco leaves under different harvesting modes

处理 Treatment	香型 Fragrant types	劲头 Mome- ntum	浓度 Concen- tration	香气质 Quality of aroma (15)	香气量 Volume of aroma (20)	余味 Aftert- aste (25)	杂气 Mixed gas (18)	刺激性 Acrim- ony (12)	燃烧性 Combus- tibility (5)	灰色 Gray (5)	得分 Score (100)	质量档次 Quality grade
①(1~3)	中间	适中+	中等+	10.71	15.61	18.51	12.43	8.64	3.00	2.86	71.76	中等
②(1~3)	中间	适中+	中等+	10.57	15.64	18.43	12.14	8.64	3.00	2.79	71.21	中等-
③(1~3)	中间	适中+	中等+	10.50	15.50	18.50	13.00	8.50	2.65	2.48	71.13	中等-
①(4~6)	中间	适中+	中等+	11.43	15.57	19.21	12.56	8.57	3.00	2.86	73.20	中等+
②(4~6)	中间	适中+	中等+	11.24	15.43	19.39	12.43	8.29	3.00	2.79	72.57	中等
③(4~6)	中间	适中	中等+	10.50	15.50	19.21	12.21	9.00	2.65	2.73	71.80	中等

**3.2 采烤模式对烟叶内在质量的影响** 不同采烤模式对红花大金元初烤烟叶内在质量影响较大,带茎采烤或上部叶逐片一次性采烤初烤烟叶还原糖、总氮、氧化钾、淀粉含量相对适宜,总植物碱、蛋白质、总糖、氯含量具有更加接近烟叶适宜含量的趋势,烟叶内在化学品质相对分2次采烤模式协调性提高,这与杜伟文等<sup>[2]</sup>对K326品种研究的结果基本一致。感官评吸质量有所改善,香气质、香气量、燃烧性提高,杂气和刺激性降低,总体质量档次上部叶一次性采烤最好,带茎一次性采烤略好于分2次采烤。

此外,上部叶分2次采烤或带茎采烤模式采收环节劳动强度及用工数会有所提高。谢已书等<sup>[1]</sup>研究指出,带茎采烤模式含有茎秆,叶片间隙增大,烤房空间利用率较低,还会增加单位烟叶烘烤成本,并且烤后烟叶茎叶拆分工序较为繁琐,费时费工。该试验是建立在同步采烤的基础上,对3种不同采烤模式进行了系统对比,明确了以带茎或一次性逐叶采收为主的上部叶采烤模式,对保山红花大金元采烤及提高烟叶质量有一定的指导意义。田间烟叶素质对烟叶烘烤质

量起着重要作用,适宜的采收时间和烟叶田间留养程度对2种一次性采烤模式影响有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 谢已书,武圣江,潘登华,等.不同采烤方式对烤烟上部6叶烘烤质量及可用性的影响[J].贵州农业科学,2010,40(11):77-80.
- [2] 杜伟文,朱列书,刘本坤,等.一次性成熟采烤对K326上部6片烟叶品质的影响[J].安徽农业科学,2011,39(18):11000-11002.
- [3] 刘光辉,刘京,姚雪梅,等.采烤方式对上部烟叶质量及采烤成本的影响[J].作物研究,2016,30(3):303-305.
- [4] 张种焯,王鑫,邱铭生,等.上部叶不同采烤方式对烟叶质量的影响[J].福建农业科学,2010(6):30-32.
- [5] 邱坤,袁黔华,王廷清,等.不同采收方式和成熟度对上部烟叶烘烤质量的影响[J].现代农业科技,2013(23):18-19.
- [6] 赵元宽.顶部烟叶带茎烘烤试验简报[J].烟草科技,2004(4):36-37.
- [7] 成本喜,侯留记,熊向东,等.烤烟上部叶一次采烤方法研究[J].烟草科技,1996(6):35-36.
- [8] 王晓宾,孙福山,徐秀红,等.上部烟叶带茎烘烤中主要化学成分变化[J].中国烟草科学,2008,29(6):12-16.
- [9] 徐秀红,王爱华,王传义,等.烘烤期间带茎采收的烤烟顶部叶某些生理生化特性变化[J].烟草科技,2006(9):51-54.
- [10] 代丽,黄永成,童旭华,等.采收方式对烤烟上部叶香味品质的影响[J].华北农学报,2009,24(2):158-163.

(上接第22页)

- [42] SPRINGOB K, NAKAJIMA J, YAMAZAKI M, et al. Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins[J]. Natural product reports, 2003, 20(3):288-303.
- [43] OWENS C L. Pigments in grape[M]//Pigments in fruits and vegetables. New York: Springer, 2015:189-204.
- [44] DELUC L, BARRIEU F, MARCHIVE C, et al. Characterization of a grapevine R2R3-MYB transcription factor that regulates the phenylpropanoid pathway[J]. Plant physiology, 2006, 140(2):499-511.
- [45] KOBAYASHI S, ISHIMARU M, HIRAOKA K, et al. Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis[J]. Planta, 2002, 215(6):924-933.
- [46] BOGS J, JAFFÉ F W, TAKOS A M, et al. The grapevine transcription fac-

- tor VvMYBPA1 regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development[J]. Plant physiology, 2007, 143(3):1347-1361.
- [47] DELUC L, BOGS J, WALKER A R, et al. The transcription factor VvMYB5b contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in developing grape berries[J]. Plant physiology, 2008, 147(4):2041-2053.
- [48] NAKATSUKA T, HARUTA K S, PITAKSUTHEEPONG C, et al. Identification and characterization of R2R3-MYB and bHLH transcription factors regulating anthocyanin biosynthesis in gentian flowers[J]. Plant and cell physiology, 2008, 49(12):1818-1829.
- [49] WALKER A R, LEE E, BOGS J, et al. White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes[J]. The plant journal, 2007, 49(5):772-785.

## 科技论文写作规范——作者

论文署名一般不超过5个。中国人姓名的英文名采用汉语拼音拼写,姓氏字母与名字的首字母分别大写;外国人姓名、名字缩写可不加缩写点。