

不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮的代谢组学分析

娄玉穗¹, 尚泓泉^{1*}, 李政², 崔小月¹, 张柯¹, 吴文莹¹, 樊红杰¹, 吕中伟^{1*}

(¹河南省农业科学院园艺研究所, 郑州 450002; ²河南中远葡萄研究所有限公司, 郑州 450045)

摘要: 【目的】为探明阳光玫瑰葡萄果锈形成的机制, 为其有效防治提供科学的指导建议。【方法】以6年生阳光玫瑰葡萄植株为试材, 在果实进入软化期后, 采集有果锈和无果锈的果粒样品, 按照果锈发生程度分成无果锈、轻度果锈和重度果锈三个等级, 研究不同果锈等级的果皮相关物质含量、酶活性及代谢组的变化。【结果】随着果锈程度的增加, 阳光玫瑰葡萄果皮的叶绿素、纤维素、半纤维素和总果胶含量逐渐降低, 木质素、总黄酮和总酚含量逐渐增加; 果皮中过氧化物酶、多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶和4-香豆酸: 辅酶A连接酶的活性逐渐增加, 过氧化氢酶活性先升高后降低, 肉桂酸-4-羟基化酶活性先降低后升高。不同果锈程度的果皮中共鉴定到1372种代谢物, 差异代谢物有485种, 三组果锈等级的果皮之间共有的差异代谢物有110种, 其中, 有105种差异代谢物在三组中均表达上调, 占有差异代谢物的95.45%, 包括37种酚酸类、31种黄酮、17种芪类、5种醌类等; 2种差异代谢物在三组中均表达下调, 包括1种脂质和1种核苷酸及其衍生物。上述差异代谢物主要分布在17条代谢途径中, 包括山柰酚昔元II的生物合成、山柰酚昔元I的生物合成和次生代谢物的生物合成等。【结论】阳光玫瑰葡萄果锈的发生对酚酸类和黄酮类物质的影响最大, 且山柰酚昔元II的生物合成途径可能在果锈的形成中发挥着重要作用。

关键词: 阳光玫瑰葡萄; 果锈; 果皮; 代谢组; 黄酮; 酚酸

中图分类号: S663.1 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2024)09-0001-08

Metabolomic analysis of different russet levels peel in Shine Muscat Grape

LOU Yusui¹, SHANG Hongquan^{1*}, LI Zheng², CUI Xiaoyue¹, ZHANG Ke¹, WU Wenying¹, FAN Hongjie¹, LÜ Zhongwei^{1*}

(¹Horticulture Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan, China; ²Henan Zhongyuan Grape Research Institute Company Limited, Zhengzhou 450045, Henan, China)

Abstract: 【Objective】Grape berry russet is a physiological disease due to adverse environmental stimulation, which seriously affects the appearance and commercial value of grapes. To explore the mechanism of berry russet formation in grapes and provide some scientific guidance and suggestions for its effective prevention and control.【Methods】6-year-old self-rooted Shine Muscat grapevines cultivated in rain-shelter were used as the materials. Flower and fruit managements

收稿日期: 2024-05-07 接受日期: 2024-06-23

基金项目: 河南省农业科学院自主创新项目项目(2024ZC030); 国家葡萄产业技术体系豫东综合试验站项目(CARS-29-19); 河南省农业科学院科技创新团队(2024TD41); 河南省中央引导地方科技发展资金项目(Z2023181173)

作者简介: 娄玉穗, 女, 助理研究员, 博士, 主要从事葡萄栽培生理研究。E-mail: yusui86@126.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: 13838273960@163.com; E-mail: nkylzw@126.com

were carried out according to the conventional methods. Leave 6 cm of flower cluster tip during the initial flowering period. After 1 to 3 days of blooming and two weeks later, 25 mg·L⁻¹ gibberellic acid + 2 mg·L⁻¹ forchlorfenuron were applied for fruit preservation and enlargement treatments, respectively. After softening period, grape berries with and without berry russet were collected and divided into three levels: no russet (NR), mild russet (MR, the area of berry russet is less than 10% of the whole peel and the color of berry russet is light), and severe russet (SR, the area of fruit russet is more than 25% of the whole peel and the color of berry russet is dark.) according to the degrees of berry russet occurrence. The contents of related substances, enzyme activities, and metabolome in the peels of different berry russet levels were studied through the methods of biochemical and widely targeted metabolomics. **【Results】** With the increase of berry russet level, the contents of chlorophyll, cellulose, hemicellulose, and total pectin in the peel decreased gradually, while the content of lignin, total flavonoids, and total phenol increased gradually. There were significant differences in the contents of cellulose, hemicellulose, total pectin, lignin, total flavonoids, and total phenol among three berry russet levels. The lignin content, total flavonoid content, and total phenolic content of severe russet peel were 71.60, 2.89, and 2.04 mg·g⁻¹, respectively. Furthermore, the activities of peroxidase, polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia-lyase, cinnamyl-alcohol dehydrogenase, and 4-coumarate:CoAligase in the peel increased gradually, and the catalase activity increased first and then decreased, while the cinnamate-4-hydroxylase activity decreased first and then increased with the increase of berry russet level. There were significant differences in the activities of peroxidase, polyphenol oxidase, and 4-coumarate:CoAligase among three berry russet levels. There were no significant differences in the activities of phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate-4-hydroxylase between no russet and mild russet. A total of 1372 metabolites in 13 classes (Class I) or 52 classes (Class II) were identified in the peel of Shine Muscat grapes, including 270 flavonoids, 223 terpenoids, 163 phenolic acids, 127 amino acids and derivatives, 115 lipids, and 106 alkaloids and so on. Among them, there were 690 up-regulated metabolites and 682 down-regulated metabolites in the peel of mild russet vs no russet. There are 920 up-regulated metabolites and 452 down-regulated metabolites in the peel of severe russet vs mild russet. There are 835 up-regulated metabolites and 537 down-regulated metabolites in the peel of severe russet vs no russet. 485 differential metabolites were determined by VIP (VIP > 1) and absolute Log2FC (|Log2FC| ≥ 1) in the peel of Shine Muscat grapes with different degrees of berry russet. And 247, 287, and 386 differential metabolites existed between mild russet and no russet, severe russet and mild russet, and severe russet and no russet, respectively. Venn diagram analysis was performed and it was found that there were 110 common differential metabolites in the three groups. Among them, 105 differential metabolites were up-regulated in all three groups, accounting for 95.45% of the common differential metabolites, including 37 phenolic acids, 31 flavonoids, 17 stilbene, five quinones, tree terpenoids, three amino acids and derivatives, two lignans and coumarins, one alkaloid, one tannin, one chromone, and four others. Two differential metabolites were down-regulated in all three

groups, including one lipid and one nucleotide and derivative. Three differential metabolites (which were flavonoids) were down-regulated in mild russet vs no russet, and up-regulated in both severe russet vs mild russet and severe russet vs no russet. The above 110 differential metabolites were mainly enriched in 17 metabolic pathways through KEGG pathway annotation and Metware pathway annotation, including biosynthesis of kaempferol aglycones II (six differential metabolites), biosynthesis of kaempferol aglycones I (four differential metabolites), biosynthesis of secondary metabolites (four differential metabolites), metabolic pathways (three differential metabolites), biosynthesis of quercetin aglycones I (two differential metabolites), stilbenoid, diarylheptanoid and gingerol biosynthesis (two differential metabolites), and tyrosine metabolism (two differential metabolites) and so on. In the biosynthesis of kaempferol aglycones II, five differential metabolites of 6-hydroxykaempferol-3,7,6-*O*-triglycoside, 6-hydroxykaempferol-7,6-*O*-diglycoside, 6-hydroxykaempferol-3,6-*O*-diglycoside, 6-hydroxykaempferol-3,6-*O*-diglycoside-7-*O*-glucuronic acid, 6-methoxykaempferol-3-*O*-glucoside presented up-regulated among three groups, which may play an important role in berry russet formation of Shine Muscat. While the metabolite of kaempferol-4'-*O*-glucoside presented down-regulated in mild russet vs no russet and up-regulated in severe russet vs mild russet and severe russet vs no russet.【Conclusion】The occurrence of berry russet in Shine Muscat grapes had a greater impact on the metabolites of phenolic acids and flavonoids than others. The biosynthesis of kaempferol glycoside II might play an important role in the formation of berry russet.

Key words: Shine Muscat grape; Berry russet; Peel; Metabolome; Flavonoids; Phenolic acids

葡萄是世界性重要果树，因其适应性广、形态美观、多汁味美、营养价值高等特点而深受大众喜爱。随着人民生活水平的提高，消费者对葡萄外在和内在品质均提出了更高要求。葡萄果锈是果实遭受不良环境刺激产生的一种生理性病害，表现为果实表面呈现条状或不规则状黄褐色锈斑，严重时连成片，致使果实表皮形成木栓化组织^[1-2]，严重影响其外观品质和经济价值，该病在黄绿色葡萄品种上尤为凸显^[3]，尤其是在近年来我国大面积种植的阳光玫瑰葡萄品种上，成为降低其商品性的重要原因。

果锈是一层褐色的木栓化次生保护组织，果锈的形成主要是果皮角质的减少和木质素、木栓质的积累^[4-6]，木质素、酚类、芪类、木栓质等物质含量的变化与果锈的形成密切相关^[5-7]。王慧等^[8]在翠冠梨上的研究发现，果锈主要是破碎的角质膜、木质化加厚的表皮和亚表皮细胞以及果点上较易剥落的物质。还有研究表明，翠冠梨果锈的形成与角质（主要是 C16-C18 ω -羟基脂肪酸）的减少和木栓质（包括阿魏酸、C19-C23 脂肪酸、C22-C26 脂肪醇、C16-C22 α , ω -二羧基脂肪酸、C22、C26 ω -羟基脂肪酸、 α , ω -二羧酸和 ω -羟基酸等）含量的增加有关^[9-10]。与 Reinders 品种相比，Rugiada 品种苹果（感锈品种）果锈果皮中的中链羟基脂肪酸（C16-9/10,16-DHFA）、末端羟基化脂肪酸（C16- ω -HFA）、环氧脂肪酸（C18:1-9,10-环氧-19- ω -HFA）含量降低，而 C20- ω -HFAs、C22- ω -HFAs、饱和脂肪酸（C22:0 FA）及酚类、

阿魏酸、苯甲酸、肉桂酸等代谢物的含量增加^[11]。与金冠和 Smoothee 苹果（非感锈品种）相比，Rugiada 苹果果皮中乌索酸、齐墩果酸含量显著降低，而三萜（桦木酸、羽扇豆醇、桦木蛋白、咖啡酸三萜衍生物）、二氢查耳酮类、酚酸含量升高^[12]。另外，果锈的发生与苯丙烷代谢、木质素合成、酚类物质代谢、脂肪酸合成、乙烯代谢、转录调节、细胞外聚合和运输等有关，与其代谢相关的苯丙氨酸解氨酶（PAL）、肉桂酸-4-羟化酶（C4H）、4-香豆酸-辅酶 A 连接酶（4CL）、过氧化物酶（POD）、肉桂醇脱氧酶（CAD）、多酚氧化酶（PPO）、过氧化氢酶（CAT）、咖啡酸-O-甲基转移酶、肉桂酰辅酶 A 还原酶、白藜芦醇合成酶等的活性与果锈的形成相关联^[13-15]。在阳光玫瑰葡萄上的研究表明，赤霉素和氯吡脞处理降低阳光玫瑰葡萄果锈发生与果皮中白藜芦醇、总酚、木质素、咖啡酸、香豆酸、丁香酸等含量的下降及苯丙烷合成、类黄酮合成、苯丙氨酸代谢有关^[16-17]。套袋降低阳光玫瑰葡萄果锈的发生主要是降低了果皮中木质素、酚类化合物及酚组分含量^[18]。那么相同管理条件下，有果锈与无果锈的葡萄果皮物质成分及相关酶活性发生怎样的变化呢？至今尚没有明确报道。代谢组学为研究代谢物及生物过程提供了很好的方法，因此，通过比较果锈发生过程中的代谢组学变化，有助于弄清哪些代谢物和生物过程在葡萄果锈形成中起着关键作用。

因此，笔者在本研究中以无果锈、轻度果锈（果锈刚发生）和严重果锈（果锈发生后期）的阳光玫瑰葡萄果粒为对象，分析比较其果皮物质、相关酶活性及代谢组的变化，以期找出影响葡萄果锈形成的关键代谢物和生物过程，为探明葡萄果锈形成的机制奠定基础，也为果锈有效防治技术开发提供科学的指导建议。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验于 2023 年在河南现代农业研究开发基地（35.0°N、113.7°E）进行。以 6 年生阳光玫瑰葡萄植株为试材，自根砧，南北行向，株行距 1.5 m × 3 m，高宽平架式，简易避雨栽培。花果管理和肥水管理参考姜玉穗等^[19]的方法进行，于见花时修整花穗，留穗尖 6 cm，盛花后 1~3 d（5 月 11—13 日）分批次用 25 mg·L⁻¹ 赤霉素（GA₃）+ 2 mg·L⁻¹ 氯吡脞（CPPU）进行保花保果处理，2 周后用 25 mg·L⁻¹ GA₃ + 2 mg·L⁻¹ CPPU 进行膨大处理。在果粒黄豆粒大小时疏果至 60 粒左右，控制单穗质量 700 g 左右。

1.2 样品采集

在果实成熟期（8 月 21 日），采集无果锈和有果锈的果粒样品，按照果锈发生程度分成无果锈（NR, No Russet）、轻度果锈（MR, Mild Russet, 果锈面积 < 10% 且果锈颜色浅）和重度果锈（SR, Severe Russet, 果锈面积 ≥ 25% 且果锈颜色深）三组（图 1）。先用刀片划出取样部位（无果锈样品划出表皮光滑、无斑点部位，轻度果锈和重度果锈样品划出有果锈部位），然后用镊子分别夹取三组果皮样品，置于液氮中快速冷冻，带回实验室用于以下指标的测定。



无果锈 No Russet

轻度果锈 Mild Russet

重度果锈 Severe Russet

图中红线框内为取样部位。

The red box in the picture represents the sampling location.

图 1 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果粒样品

Fig. 1 Berry samples of different russet levels in Shine Muscat grape

1.3 果皮物质含量、相关酶活性的测定

1.3.1 果皮物质含量检测 叶绿素含量采用分光光度法测定，纤维素含量采用蒽酮比色法测定，半纤维素含量采用酶解法测定，总果胶含量采用咪唑比色法测定，木质素含量采用乙酰化法测定，总酚含量的测定采用福林酚法测定，总黄酮含量采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 显色法测定。

1.3.2 果皮相关酶活性测定 过氧化物酶活性采用愈创木酚法测定，多酚氧化酶活性采用邻苯二酚法测定，苯丙氨酸解氨酶活性、肉桂酸 4-羟基化酶活性、4-香豆酸：辅酶 A 连接酶活性、肉桂醇脱氢酶活性和过氧化氢酶活性采用分光光度法测定。

1.3.3 数据处理 试验数据用 SPSS 20 软件进行统计分析。

1.4 果皮广泛靶向代谢组检测与分析

1.4.1 样品提取 将样品置于冻干机 (Scientz-100F) 中真空冷冻干燥，研磨仪 (MM 400, Retsch) 研磨 (30 Hz, 1.5min) 至粉末状，用电子天平 (MS105DM) 称取 50 mg 粉末，加入 1200 μL -20°C 预冷的 70% 甲醇水内标提取液中，每 30 min 涡旋一次，每次持续 30 s，共涡旋 6 次；然后在 12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 3 min，取上清，用微孔滤膜 (0.22 μm) 过滤样品，保存于进样瓶中用于超效液相色谱-质谱联用 (UPLC-MS/MS) 分析。

1.4.2 UPLC-MS/MS 采集条件 液相条件：色谱柱为 Agilent SB-C18 1.8 μm 2.1 mm \times 100 mm；流动相：A 相为超纯水 (加入 0.1% 甲酸)，B 相为乙腈 (加入 0.1% 甲酸)；洗脱梯度：0 min B 相比例为 5%，9 min 内 B 相比例线性增加到 95%，并维持在 95% 1 min，10~11 min，B 相比例降为 5%，并以 5% 平衡至 14 min；流速 0.35 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；柱温 40°C ；进样量 2 μL 。质谱条件：电喷雾离子源 (ESI) 温度 550°C ；离子喷雾电压 (IS) 5500 V (正离子模式) / -4500 V (负离子模式)；离子源气体 I (GSI)、气体 II (GSII) 和气帘气 (CUR) 分别设置为 50、60 和 25 psi，碰撞诱导电离参数设置为高。三重四级杆 (QQQ) 扫描使用 MRM 模式，

并将碰撞气体（氮气）设置为中等。通过进一步的去簇电压（DP）和碰撞能（CE）优化，完成了各个 MRM 离子对的 DP 和 CE。根据每个时期内洗脱的代谢物，在每个时期监测一组特定的 MRM 离子对。

1.4.3 代谢物定性定量分析 代谢物的定性基于武汉迈维生物技术有限公司自建数据库（Metware database, MWDB）及代谢物信息公共数据库，根据二级谱信息进行物质定性，分析去除了同位素信号和重复信号。代谢物定量分析利用三重四级杆质谱的多反应监测模式（Multiple reaction monitoring, MRM）分析完成。利用软件 Analyst 1.6.3 处理质谱数据。根据代谢物保留时间与峰型信息，对每个代谢物在不同样本中检测到的质谱峰进行校正，以确保定性定量的准确。

1.4.4 数据分析 将代谢物数据进行无监督的主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）和有监督的正交偏最小二乘法判别分析（Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis, OPLS-DA）以观察分组之间和组内样本之间的变异度大小。根据获得的多变量分析 OPLS-DA 模型的变量重要性投影 VIP 值（Variable Importance in Projection, $VIP > 1$ ）和差异倍数（Fold Change ≥ 2 和 $\text{fold change} \leq 0.5$, FC）筛选差异代谢物。将差异代谢物映射到 KEGG 数据库和 Metware database 中进行注释，根据注释结果按照通路中的类型进行分类。

2 结果与分析

2.1 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮物质含量

从表 1 可知，随着果锈程度的增加，阳光玫瑰葡萄果皮的叶绿素、纤维素、半纤维素和总果胶含量逐渐降低，而木质素、总黄酮和总酚含量逐渐增加。其中，无果锈和轻度果锈的果皮叶绿素含量之间差异不显著，且均显著高于重度果锈果皮的叶绿素含量。无果锈、轻度果锈和重度果锈果皮的纤维素、半纤维和总果胶含量之间差异均显著，重度果锈果皮的纤维素含量为 $46.25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。无果锈、轻度果锈和重度果锈果皮的木质素、总黄酮和总酚含量之间差异也均显著，且重度果锈果皮的木质素、总黄酮和总酚含量分别为 71.60、2.89 和 $2.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

表 1 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮物质含量

Table 1 Substances contents of peel in different berry russet levels in Shine Muscat grape

果锈程度	叶绿素	纤维素	半纤维素	总果胶	木质素	总黄酮	总酚
Berry russet level	Chlorophyll/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Cellulose/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Hemicellulose/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Total pectin/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Lignin/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Total flavonoids/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Total phenol/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
无果锈 No Russet	10.84±0.65 a	61.48±0.78 a	27.65±1.20 a	10.04±0.33 a	50.89±4.36 c	1.64±0.06 c	1.16±0.03 c
轻度果锈 Mild Russet	10.72±0.22 a	53.90±2.31 b	21.83±0.72 b	8.43±0.32 b	57.66±1.12 b	2.20±0.03 b	1.76±0.02 b

重度果锈 Severe Russet	8.98±0.11 b	46.25±0.45 c	18.66±0.41 c	6.25±0.16 c	71.60±1.00 a	2.89±0.01 a	2.04±0.07 a
-----------------------	-------------	--------------	--------------	-------------	--------------	-------------	-------------

注：表中数据为平均值±标准差，数值后不同小写字母表示同一列中不同果锈程度之间差异显著 ($p < 0.05$)，下同。

Note: The data in the table are means ± standard deviation. Different lowercase letters indicate significant differences among different berry russet levels in the same column at 0.05 level. The same below.

2.2 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮相关酶活性

随着果锈程度的增加，阳光玫瑰葡萄果皮的过氧化物酶、多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶、4-香豆酸：辅酶 A 连接酶的活性逐渐增加，而过氧化氢酶活性先升高后降低，肉桂酸-4-羟基化酶活性先降低后升高。轻度果锈和重度果锈果皮的过氧化氢酶活性分别为 $88.37 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $84.16 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ，两者之间差异不显著，且均显著高于无果锈果皮。重度果锈、轻度果锈和无果锈果皮的过氧化物酶、多酚氧化酶、4-香豆酸：辅酶 A 连接酶的活性之间差异均显著。轻度果锈和无果锈果皮的苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶和肉桂酸-4-羟基化酶的活性之间差异不显著，但重度果锈果皮的这三种酶活性显著高于轻度果锈和无果锈果皮。

表 2 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮相关酶活性

Table 2 Related enzyme activities of different berry russet levels in Shine Muscat grape peel

果锈程度 Berry russet level	过氧化氢酶 Catalase/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	过氧化物酶 Peroxidase/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	多酚氧化酶 Polyphenol oxidase/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	苯丙氨酸解氨酶 Phenylalanine ammonia-lyase/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	肉桂醇脱氢酶 Cinnamyl-alcohol dehydrogenase/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	4-香豆酸：辅酶 A 连接酶 4-coumarate:Co Aligase/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	肉桂酸-4-羟基 化酶 Cinnamate-4-hy droxylase/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)
无果锈 No Russet	62.35±1.16 b	107.22±1.96 c	81.55±5.58 c	72.29±4.26 b	0.45±0.01 b	10.78±0.24 c	33.20±0.92 b
轻度果锈 Mild Russet	88.37±0.95 a	198.56±1.71 b	164.96±4.33 b	78.25±1.98 b	0.49±0.01 b	17.35±0.90 b	31.29±0.60 b
重度果锈 Severe Russet	84.16±0.79 a	234.04±5.08 a	221.03±2.74 a	105.64±4.04 a	1.01±0.08 a	27.85±1.85 a	48.02±1.24 a

2.3 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮代谢组成成分总体分析

不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮经 UPLC-MS/MS 分析，共鉴定出 1372 种代谢物，按照物质一级分类属于 13 类、二级分类属于 52 类（表 3），包括 270 种黄酮、223 种萜类、188 种其他类、163 种酚酸类、127 种氨基酸及其衍生物、115 种脂质、106 种生物碱、53 种木脂素和香豆素、37 种有机酸、36 种核苷酸及其衍生物、29 种鞣质、15 种醌类、10 种甾体。其中，与无果锈相比，轻度果锈上调代谢物有 690 种，下调代谢物有 682 种；与轻度果锈相比，重度果锈上调代谢物有 920 种，下调代谢物有 452 种；与无果锈相比，重度果锈上调代谢物有 835 种，下调代谢物有 537 种。

表 3 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮代谢物种类与数量

Table 3 Class and number of metabolites in different berry russet levels of Shine Muscat grape peel

物质一级分类 Class I	物质数量 Compound number	物质二级分类 Class II	物质数量 Compound number	上调 Up regulation			下调 Down regulation		
				MR vs NR	SR vs MR	SR vs NR	MR vs NR	SR vs MR	SR vs NR
黄酮 Flavonoids	270	黄酮醇 Flavonols	96	41	87	66	55	9	30
		黄酮 Flavones	50	20	41	35	30	9	15
		黄烷醇类 Flavanols	41	19	18	13	22	23	28
		花青素 Anthocyanidins	16	8	12	8	8	4	8
		二氢黄酮 Flavanones	15	7	14	11	8	1	4
		其他类黄酮 Other Flavonoids	14	7	13	13	7	1	1
		查耳酮 Chalcones	14	2	11	8	12	3	6
		异黄酮 Isoflavones	12	4	8	6	8	4	6
		二氢黄酮醇 Flavanonols	10	5	4	5	5	6	5
萜类 Terpenoids	223	橙酮类 Aurones	1	0	1	1	1	0	0
		二氢异黄酮 Dihydroisoflavones	1	0	0	0	1	1	1
		三萜 Triterpene	120	24	81	73	96	39	47
		倍萜 Monoterpenoids	39	22	28	27	17	11	12
		倍半萜 Sesquiterpenoids	26	12	13	13	14	13	13
		二萜 Diterpenoids	21	11	14	15	10	7	6
		萜类 Terpene	10	8	9	8	2	1	2
		三萜皂苷 Triterpene Saponin	7	4	4	4	3	3	3

		其他 Others	63	33	37	34	30	26	29
		糖类 Saccharides	44	39	19	31	5	25	13
		芪类 Stilbene	36	33	32	32	3	4	4
		酮类化合物 Ketone compounds	13	6	6	5	7	7	8
其他类 Others	188	维生素 Vitamin	8	4	5	4	4	3	4
		醇类化合物 Alcohol compounds	7	3	4	6	4	3	1
		内酯类化合物 Lactones	7	3	4	1	4	3	6
		色酮类 Chromone	6	6	6	6	0	0	0
		醛类化合物 Aldehyde compounds	4	2	2	2	2	2	2
酚酸类 Phenolic acids	163	酚酸类 Phenolic acids	163	98	123	107	65	40	56
氨基酸及其衍生物									
Amino acids and derivatives	127	氨基酸及其衍生物 Amino acids and derivatives	127	83	77	85	44	50	42
脂质 Lipids									
		游离脂肪酸 Free fatty acids	50	20	33	22	30	17	28
		甘油酯 Glycerol ester	20	4	8	5	16	12	15
		溶血磷脂酰胆碱 LPC	18	10	18	18	8	0	0
		溶血磷脂酰乙醇胺 LPE	17	4	17	16	13	0	1
		鞘脂 Sphingolipids	10	2	7	4	8	3	6
生物碱 Alkaloids									
		生物碱 Alkaloids	62	20	36	26	42	26	36
		吲哚类生物碱 Plumerane	17	6	14	10	11	3	7
生物碱 Alkaloids	106	酚胺 Phenolamine	8	3	5	4	5	3	4
		吡咯类生物碱 Pyrrole alkaloids	5	4	3	2	1	2	3

		吡啶类生物碱 Pyridine alkaloids	4	2	4	3	2	0	1
		异喹啉类生物碱 Isoquinoline alkaloids	4	3	3	4	1	1	0
		喹啉类生物碱 Quinoline alkaloids	4	3	3	4	1	1	0
		哌啶类生物碱 Piperidine alkaloids	2	1	1	1	1	1	1
木脂素和香豆素 Lignans and Coumarins	53	木脂素 Lignans	36	24	21	22	12	15	14
		香豆素 Coumarins	17	7	11	9	10	6	8
有机酸 Organic acids	37	有机酸 Organic acids	37	22	16	19	15	21	18
核苷酸及其衍生物									
Nucleotides and derivatives	36	核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives	36	19	22	21	17	14	15
鞣质 Tannins	29	鞣质 Tannin	16	8	7	4	8	9	12
		原花青素 Proanthocyanidins	13	8	1	4	5	12	9
醌类 Quinones	15	蒽醌 Anthraquinone	6	3	5	5	3	1	1
		菲醌 Phenanthraquinones	5	5	5	5	0	0	0
		醌类 Quinones	4	4	3	4	0	1	0
甾体 Steroids	10	甾体 Steroid	5	3	2	3	2	3	2
		甾体皂苷 Steroidal saponins	5	1	2	1	4	3	4

2.4 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮代谢组学差异分析

2.4.1 主成分分析

通过对样本进行主成分分析,初步了解不同果锈程度阳光玫瑰葡萄果皮的总体代谢组差异和组内样本之间的变异度大小。PCA 分析结果得到 13 个主成分,其中主成分 1 (PC1) 的贡献率为 41.20%,主成分 2 (PC2) 的贡献率为 18.84%,且三组样本在二维图上表现出明显的分离趋势,从总体上反映出三组样品之间的代谢物差异。

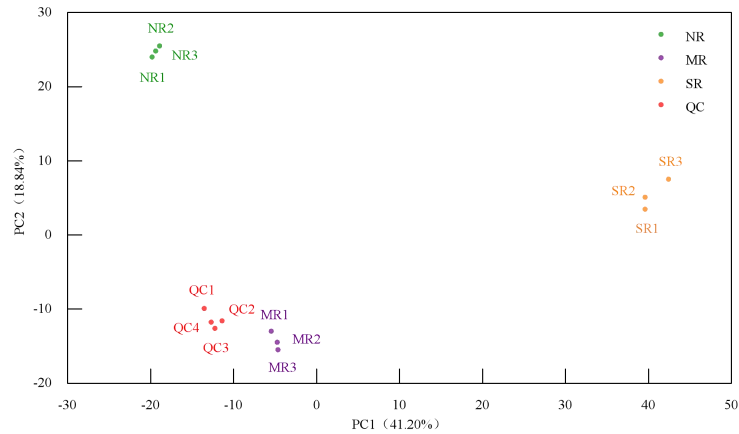


图 2 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮样本及质控的 PCA 结果

Fig.2 PCA results of different berry russet levels in Shine Muscat grape and quality control

2.4.2 差异代谢物筛选

不同程度果锈的阳光玫瑰葡萄果皮差异代谢物有 485 种,其中,轻度果锈与无果锈果皮间显著差异的代谢物有 247 种,显著下调代谢物有 65 种,显著上调代谢物有 182 种;重度果锈与轻度果锈果皮间显著差异的代谢物有 287 种,显著下调代谢物有 31 种,显著上调代谢物有 256 种;重度果锈与无果锈果皮间显著差异的代谢物有 386 种,显著下调代谢物有 65 种,显著上调代谢物有 321 种(表 4)。对三组差异代谢物进行韦恩图分析,发现三组中共有的差异代谢物有 110 种(图 3)。

表 4 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮显著差异代谢物数量

Table 4 Numbers of significant differential metabolites of different berry russet levels in Shine Muscat grape peel

分组	差异代谢物数量	下调代谢物数量	上调代谢物数量
Group	Numbers of all differential metabolites	Numbers of down regulated metabolites	Numbers of up regulated metabolites
轻度果锈与无果锈 Mild russet vs No russet	247	65	182
严重果锈与轻度果锈 Severe russet vs Mild russet	287	31	256

分组	差异代谢物数量	下调代谢物数量	上调代谢物数量
Group	Numbers of all differential metabolites	Numbers of down regulated metabolites	Numbers of up regulated metabolites
严重果锈与无果锈 Severe russet vs No russet	386	65	321

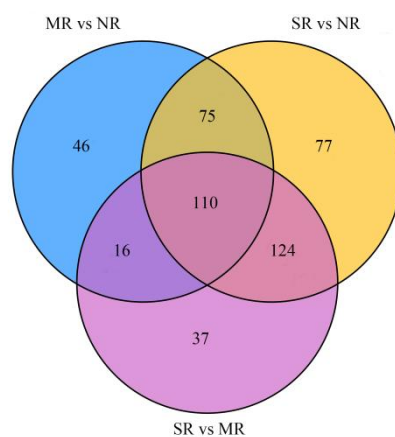


图 3 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮组间共同差异代谢物韦恩图

Fig. 3 Common differential metabolites Wayne diagram between groups of different berry russet levels in Shine Muscat grape berry peels

2.4.3 差异代谢物热图分析

对三组中共有的 110 种差异代谢物进行热图分析,发现有 105 种差异代谢物在三组中均表达上调, 占有所有差异代谢物的 95.45%, 包括 37 种酚酸类、31 种黄酮 (1 种异黄酮、2 种其他类黄酮、1 种黄烷醇类、19 种黄酮醇、4 种黄酮、2 种花青素、2 种二氢黄酮)、22 种其他类 (包括 17 种芪类、1 种色酮类和 4 种其他)、5 种醌类 (2 种醌类、3 种菲醌)、3 种萜类 (2 种三萜皂苷、1 种倍萜)、3 种氨基酸及其衍生物、2 种木脂素和香豆素 (木脂素)、1 种生物碱和 1 种鞣质 (原花青素); 2 种在三组中均表达下调, 包括 1 种脂质 (4-羟基鞘氨醇) 和 1 种核苷酸及其衍生物 (N6-异戊烯腺嘌呤); 3 种黄酮类物质 (1 种黄酮、1 种查耳酮、1 种黄酮醇) 在 MR 与 NR 中表达下调, 在 SR 与 MR 和 SR 与 NR 中均表达上调。

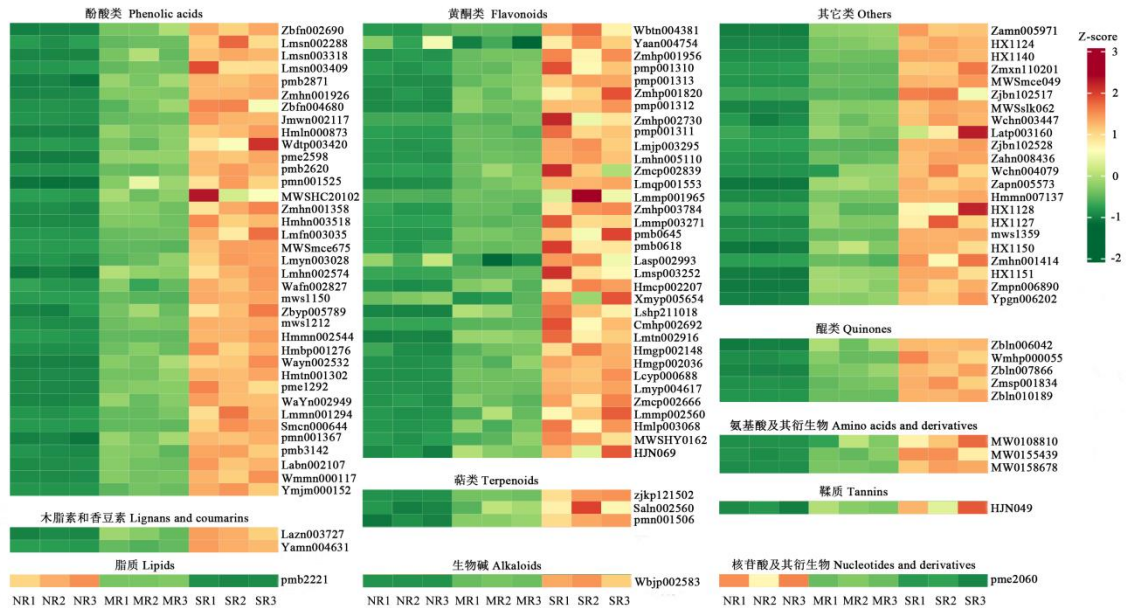


图 4 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮组间共同差异代谢物热图

Fig. 4 The heat map of common differential metabolites between groups of different berry russet levels in Shine Muscat grape berry peels

2.4.4 差异代谢物通路分析

通过 KEGG 数据库和 MetMap 数据库对差异代谢物质进行通路富集分析, 结果以气泡图的形式展现, 气泡代表代谢通路, 气泡所在横坐标和气泡大小表示影响值, 气泡越大, 表示通路越重要; 纵坐标和气泡颜色表示富集分析的 P 值, 颜色越深 P 值越小, 富集程度越显著。由图 4 可知, 上述 110 种差异代谢物质中有 17 种被注释到 17 条代谢途径中, 其中, 被注释到山柰酚苷元 II 的生物合成 (Biosynthesis of kaempferol aglycones II) 有 6 种, 被注释到山柰酚苷元 I 的生物合成 (Biosynthesis of kaempferol aglycones I) 和次生代谢物的生物合成 (Biosynthesis of secondary metabolites) 有 4 种, 被注释到代谢途径 (Metabolic pathways) 有 3 种, 被注释到槲皮素苷元 I 的生物合成 (Biosynthesis of quercetin aglycones I)、二苯乙烯、二芳基庚烷和姜酚的生物合成 (Stilbenoid, diarylheptanoid and gingerol biosynthesis) 和酪氨酸代谢 (Tyrosine metabolism) 有 2 种, 被注释到花青素的生物合成 (Anthocyanin biosynthesis)、槲皮素苷元 II 的生物合成 (Biosynthesis of quercetin aglycones II)、槲皮素苷元 III 的生物合成 (Biosynthesis of quercetin aglycones III)、黄酮和黄酮醇的生物合成 (Flavone and flavonol biosynthesis)、糖酵解/糖异生 (Glycolysis / Gluconeogenesis)、泛醌和其他萜类醌的生物合成 (Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis)、辅因子的生物合成 (Biosynthesis of cofactors)、鞘脂代谢 (Sphingolipid metabolism)、玉米素的生物合成 (Zeaxanthin biosynthesis)、植物激素信号转导 (Plant hormone signal transduction) 有 1 种。说明阳光玫瑰葡萄果锈发生对山柰酚苷元 II 的生物合成的影响最显著。

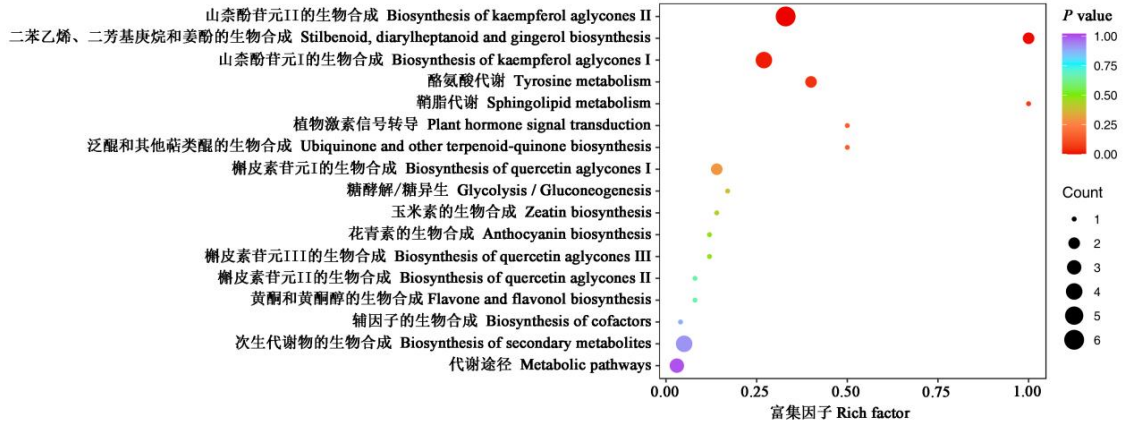


图 5 不同果锈程度的阳光玫瑰葡萄果皮组间差异代谢物的 KEGG 富集图

Fig. 5 Differential metabolite KEGG enrichment map of Shine Muscat grape berry peels of different berry russet levels

2.4.5 山柰酚苷元 II 的生物合成途径分析

在山柰酚苷元 II 的生物合成途径中，被注释到的 6 种差异代谢物均属于黄酮类，其中，6-羟基山柰酚-3,7,6-*O*-三葡萄糖苷 (6-hydroxykaempferol-3,7,6-*O*-triglycoside)、6-羟基山柰酚-7,6-*O*-二葡萄糖苷 (6-hydroxykaempferol-7,6-*O*-diglycoside)、6-羟基山柰酚-3,6-*O*-二葡萄糖苷 (6-hydroxykaempferol-3,6-*O*-diglycoside)、6-羟基山柰酚-3,6-*O*-二葡萄糖苷-7-*O*-葡萄糖醛酸 (6-hydroxykaempferol-3,6-*O*-diglycoside-7-*O*-Glucuronic Acid) 和 6-甲氧基山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷 (6-methoxykaempferol-3-*O*-glucoside) 在三组中表达均上调，而山柰酚-4'-*O*-葡萄糖苷 (kaempferol-4'-*O*-glucoside) 在 MR 与 NR 中表现下调，在 SR 与 MR 和 SR 与 NR 中均表达上调。

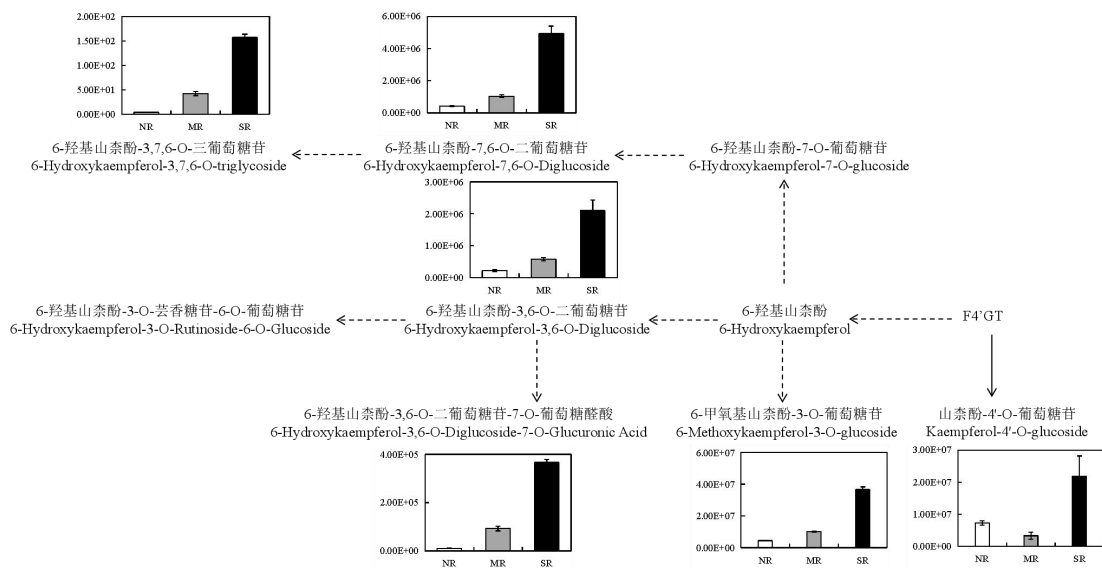


图 6 部分山柰酚苷元 II 的生物合成途径

Fig. 6 Part of the biosynthesis of kaempferol aglycones II

3 讨论

果锈是果实发育过程中的一种生理紊乱现象，黄绿色的葡萄、苹果、梨等更容易发生果锈，如阳光玫瑰葡萄、金冠苹果、翠冠梨等^[1, 4, 8]，成为降低其商品性的重要原因。生产上常用套袋、植物生长调节剂处理、施钙肥等方法来降低果锈的发生^[3, 16-18]，而这些方法只能在一定程度上起作用，不能完全解决，究其原因是还没有完全掌握果锈的发生机制。

叶绿素是果实早期的主要呈色色素，随着果实的发育，葡萄果皮呈现出典型的叶绿素降解特征^[20]。本研究中，发生果锈的阳光玫瑰葡萄果皮呈黄褐色，且随着果锈程度的增加，果锈颜色越深，叶绿素含量越低，只有重度果锈的果皮叶绿素含量显著低于无果锈果皮，说明轻度果锈的果皮叶绿体还没有遭到严重破坏。植物细胞壁分为初生壁与次生壁，初生壁主要由纤维素、半纤维素、果胶和糖蛋白组成；次生壁主要由纤维素、半纤维素和木质素构成，因此，纤维素、半纤维素、果胶和木质素含量对于维持细胞壁的稳定具有重要作用^[21]。黄艳等^[18]的研究发现，阳光玫瑰葡萄有锈果皮的角质层细胞不明显，角质膜结构被破坏，表皮蜡质层相对稀疏，表皮细胞壁次生加厚，木质素和总酚含量显著提高。本研究结果与其相似，随着果锈发生程度的增加，果皮中的纤维素、半纤维素和总果胶含量逐渐降低，木质素、总黄酮和总酚含量逐渐增加，且无果锈、轻度果锈和重度果锈的这些指标之间差异均显著，说明果锈一开始发生，果皮的细胞壁结构就遭到破坏，次生细胞壁加厚。

研究表明，果锈的发生主要是次生代谢的结果^[13-14]，与苯丙烷代谢、木质素合成、酚类物质代谢、脂肪酸合成等有关，与其代谢相关的 PAL、C4H、4CL、POD、CAD、PPO、CAT 等的活性与果锈的形成有关^[13-15]。李晶^[22]的研究表明，维纳斯黄金苹果果锈指数与果实 PAL、PPO、4CL、C4H 的活性呈负相关，与 POD、CAD、CCR 的活性呈正相关；华金苹果果锈指数与 PAL、PPO、CAD、CCR、C4H 的活性呈负相关，与 POD、4CL 的活性呈正相关。刘鹿宁等^[23]的研究表明琯溪蜜柚果实汁胞粒化过程中与木质素合成相关酶 PAL、C4H、4CL、CAD、PPO 的活性明显上升，木质素含量显著积累。本研究中，随着果锈程度的增加，阳光玫瑰葡萄果皮的 POD、PPO、PAL、CAD、4CL 的活性逐渐增加，而 CAD 活性先升高后降低，C4H 活性先降低后升高，说明阳光玫瑰葡萄果锈发生与 POD、PPO、PAL、CAD、4CL 的活性呈正相关，CAD 在果锈形成早期起作用，C4H 在果锈形成后期起作用。这与 Hou 等^[16]的研究结果略有不同，其研究中阳光玫瑰葡萄果锈的减少与 PAL、POD 活性的降低和 4CL 活性的增加有关。

果锈的形成是一个复杂的生物过程，主要涉及到木栓质在果皮中的积累，木质素和脂肪酸代谢是两个重要的代谢途径，其为木栓质及其他物质合成提供前体物质^[15]。代谢组学是对某一生物或细胞在一特定生理时期内所有低分子量代谢产物进行定性和定量分析的一门学科，为研究生物代谢物及生物过程提供了很好的方法。杨王莉等^[24]利用代谢组学方法比较了苏翠 1 号（无或极少锈品种）及其父本翠冠（有锈品种）、母本华酥（无锈品种）的代谢物差异，发现差异代谢物主要是酚酸类、脂质类和黄酮类物质。Wang 等^[25]比较了有锈和无锈苹果果皮的代谢组差异，发现肉桂酸及其衍生物、苯丙烷、酚酸在有锈果皮中显著积累，

黄酮、氨基酸及其衍生物在两个样品中均富集。本研究中,在无果锈、轻度果锈和重度果锈的阳光玫瑰葡萄果皮代谢组的两两比较中,发现有110种共有差异代谢物,其中,有105种随着果锈发生程度的增加而表达上调,2种表达下调,这105种表达上调的代谢物中有37种酚酸、31种黄酮、17种芪类、5种醌类、3种萜类等,表达下调的2种代谢物为1种脂质(4-羟基鞘氨醇)和1种核苷酸及其衍生物(N6-异戊烯腺嘌呤),说明在阳光玫瑰葡萄果锈发生过程中,酚酸、黄酮、芪类等物质在果皮中积累,而脂质和核苷酸及其衍生物在果皮中减少,这与前人的研究结果相似^[24-25]。Huang等^[26]在阳光玫瑰葡萄无锈果皮与有锈果皮中发现有60种差异代谢物,其中,43种表达上调、17种表达下调,表达上调的代谢物中有29种酚类物质,包括10种槲皮素相关糖苷,本研究也发现有4种槲皮素相关糖苷在有果锈果皮中表达上调。在葡萄中,芪类物质的生物合成途径受非生物胁迫响应,且芪合酶位于果皮细胞壁上^[27], Suehiro等^[2]的研究表明,阳光玫瑰葡萄芪合酶基因 *VvSTS type B* 的表达上调与果锈形成相关。

通过对差异代谢物的功能注释及富集分析有助于了解特定条件下的生物代谢途径。Wang等^[25]的研究表明,代谢过程、嘌呤代谢、苯丙烷类生物合成、类黄酮生物合成、丙烷、哌啶和吡啶生物碱的生物合成参与苹果果锈的发生。还有研究表明,苯丙烷代谢、乙烯代谢、次生代谢、卟啉和叶绿素代谢、黄酮的生物合成、油菜素甾醇的生物合成、类胡萝卜素的生物合成、亚油酸代谢、 α -亚油酸代谢、角质、木栓质和蜡质的生物合成等参与梨果锈的形成^[24, 28-30]。苯丙烷的生物合成、植物信号转导和谷胱甘肽代谢参与阳光玫瑰葡萄果锈形成^[26]。本研究中,通过对110种共有差异代谢物进行注释分析,发现有17种差异代谢物质被注释到17条代谢途径中,其中,被注释到差异代谢物较多的代谢途径有山柰酚苷元II的生物合成、山柰酚苷元I的生物合成、次生代谢物的生物合成、代谢途径、槲皮素苷元I的生物合成、二苯乙烯、二芳基庚烷和姜酚的生物合成、酪氨酸代谢等。在山柰酚苷元II的生物合成途径中,6种差异代谢物均属于黄酮类物质,其中,6-羟基山柰酚-3,7,6-O-三葡萄糖苷、6-羟基山柰酚-7,6-O-二葡萄糖苷、6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖苷、6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖苷-7-O-葡萄糖醛酸和6-甲氧基山柰酚-3-O-葡萄糖苷随着果锈程度的增加均表达上调,而山柰酚-4'-O-葡萄糖苷在MR与NR中表现下调,在SR与MR和SR与NR中均表达上调。山柰酚糖苷属于黄酮醇类物质,存在于许多蔬菜、水果及中草药中,具有广泛的药理活性,包括抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌、保护损伤组织等,因其毒副作用小,越来越受到人们的关注^[31],如香石竹中有山柰酚三糖苷、山柰酚-3-O-新橙皮苷^[32]。本研究山柰酚苷元II的生物合成和山柰酚苷元I的生物合成均参与到阳光玫瑰葡萄果锈形成过程中,且多个山柰酚糖苷在果皮中积累,说明山柰酚苷元的生物合成和这几种山柰酚糖苷可能在阳光玫瑰葡萄果锈形成中发挥着重要作用。

4 结 论

在阳光玫瑰葡萄果锈发生过程中,果皮叶绿素、纤维素、半纤维素和总果胶含量逐渐降

低，木质素、总黄酮和总酚含量逐渐增加，过氧化物酶、多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶和 4-香豆酸：辅酶 A 连接酶的活性逐渐增加，过氧化氢酶活性先升高后降低，肉桂酸-4-羟基化酶活性先降低后升高。三组果锈等级的果皮之间共有的差异代谢物有 110 种，其中，有 105 种差异代谢物在三组中均表达上调，包括 37 种酚酸类、31 种黄酮、17 种芪类和 5 种醌类等；2 种在三组中均表达下调，包括 1 种脂质和 1 种核苷酸及其衍生物。上述差异代谢物质主要分布在 17 条代谢途径中，包括山柰酚苷元 II 的生物合成、山柰酚苷元 I 的生物合成和次生代谢物的生物合成等。总之，阳光玫瑰葡萄果锈的发生对酚酸类和黄酮类物质的影响最大，且山柰酚苷元 II 的生物合成途径可能在果锈的形成中发挥着重要作用。

参考文献 References:

- [1] 娄玉穗, 尚泓泉, 樊红杰, 李政, 张柯, 吕中伟, 张晓峰, 吴文莹. 不同果锈等级的阳光玫瑰葡萄果皮结构及相关物质变化[J]. 河南农业科学, 2022, 51(9): 105-113.
LOU Yusui, SHANG Hongquan, FAN Hongjie, LI Zheng, ZHANG Ke, LÜ Zhongwei, ZHANG Xiaofeng, WU Wenying. Changes in berry peel structure and related substances of Shine Muscat grape with different berry russet levels[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2022, 51(9): 105-113.
- [2] SUEHIRO Y, MOCHIDA K, ITAMURA H, ESUMI T. Skin browning and expression of PPO, STS, and *CHS* genes in the grape berries of ‘Shine Muscat’ [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2014, 83(2): 122-132.
- [3] 吴江, 程建徽, 张月华, 蒋飞荣. 黄绿色葡萄品种果皮锈斑问题及防治措施[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2006(6): 41-42.
WU Jiang, CHENG Jianhui, ZHANG Yuehua, JIANG Feirong. Problems and prevention measures of fruit russet spot in yellow-green grape varieties[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2006(6): 41-42.
- [4] YUAN G P, BIAN S X, HAN X L, HE S S, LIU K, ZHANG C X, CONG P H. An integrated transcriptome and proteome analysis reveals new insights into russetting of bagging and non-bagging “Golden Delicious” apple[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(18): 4462.
- [5] FALGINELLA L, ANDRE C M, LEGAY S, WANG K L, DARE A P, DENG C, REBSTOCK R, PLUNKETT B J, GUO L, CIPRIANI G, ESPLEY R V. Differential regulation of triterpene biosynthesis induced by an early failure in cuticle formation in apple[J]. Horticulture Research, 2021, 8(1): 75.
- [6] 张伊凡. *PpyMYB144* 调控梨果锈木栓质形成的机制研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
ZHANG Yifan. Study on the mechanism of *PpyMYB144* regulating the formation of suberin in pear rust wood[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022.
- [7] 刘子毓. *PpyNAC381* 转录调控砂梨果锈木栓质形成的机制[D]. 扬州: 扬州大学, 2023.
LIU Ziyu. *PpyNAC381* transcriptionally regulates exocarp suberization of russeted sand pear fruit[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2023.
- [8] 王慧, 安玉艳, 汪良驹. ‘翠冠’梨果锈形成的形态解剖学观察[J]. 果树学报, 2017, 34(11): 1415-1425.
WANG Hui, AN Yuyan, WANG Liangju. Morphological and anatomic observation on fruit russet formation of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai ‘Cuiguan’)[J]. Journal of Fruit Science, 2017, 34(11): 1415-1425.
- [9] 张鹏飞. ‘翠冠’梨果锈形成机制及关键过氧化物酶基因挖掘[D]. 扬州: 扬州大学, 2020.
ZHANG Pengfei. Mechanism of russet formation and mining of key *PRX* genes in ‘Cuiguan’ pear fruit[D].

Yangzhou: Yangzhou University, 2020.

[10] ZHANG J, ZHANG Y F, ZHANG P F, BIAN Y H, LIU Z Y, ZHANG C, LIU X, WANG C L. An integrated metabolic and transcriptomic analysis reveals the mechanism through which fruit bagging alleviates exocarp semi-russeting in pear fruit[J]. *Tree Physiology*, 2021, 41(7): 1306-1318.

[11] LASHBROOKE J, COHEN H, LEVY-SAMOCHA D, TZFADIA O, PANIZEL I, ZEISLER V, MASSALHA H, STERN A, TRAINOTTI L, SCHREIBER L, COSTA F, AHARONI A. MYB107 and MYB9 homologs regulate suberin deposition in angiosperms[J]. *The Plant Cell*, 2016, 28(9): 2097-2116.

[12] BUSATTO N, MATSUMOTO D, TADIELLO A, VRHOVSEK U, COSTA F. Multifaceted analyses disclose the role of fruit size and skin-russeting in the accumulation pattern of phenolic compounds in apple[J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0219354.

[13] TONG N N, PENG L P, LIU Z A, LI Y, ZHOU X Y, WANG X R, SHU Q Y. Comparative transcriptomic analysis of genes involved in stem lignin biosynthesis in woody and herbaceous *Paeonia* species[J]. *Physiologia Plantarum*, 2021, 173(3): 961-977.

[14] HU S, KAMIMURA N, SAKAMOTO S, NAGANO S, TAKATA N, LIU S, GOEMINNE G, VANHOLME R, UESUGI M, YAMAMOTO M, HISHIYAMA S, KIM H, BOERJAN W, RALPH J, MASAI E J, MITSUDA N, KAJITA S. Rerouting of the lignin biosynthetic pathway by inhibition of cytosolic shikimate recycling in transgenic hybrid aspen[J]. *The Plant Journal*, 2022, 110(2): 358-376.

[15] JIANG S H, CHEN M, WANG Z Q, REN Y X, WANG B, ZHU J, ZHANG Y G. Advances in understanding the causes, molecular mechanism, and perspectives of russeting on tree fruit[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 834109.

[16] HOU X D, WEI L L, XU Y S, KHALIL-UR-REHMAN M, FENG J, ZENG J J, TAO J M. Study on russet-related enzymatic activity and gene expression in ‘Shine Muscat’ grape treated with GA₃ and CPPU[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2018, 13(1): 195-202.

[17] 冯娇, 侯旭东, 董礼花, 陶建敏. GA₃与CPPU对葡萄果锈相关物质合成及基因表达的影响[J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(3): 642-650.

FENG Jiao, HOU Xudong, DONG Lihua, TAO Jianmin. Effects of GA₃ and CPPU on the synthesis of related substances and gene expression of berry russet of grapes[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 34(3): 642-650.

[18] 黄艳, 王铤, 刘磊, 梁东, 王进, 吕秀兰, 黄科文. 不同果袋对阳光玫瑰葡萄果锈形成及酚类物质的影响[J]. *中国果树*, 2023(12): 53-58.

HUANG Yan, WANG Ting, LIU Lei, LIANG Dong, WANG Jin, LÜ Xiulan, HUANG Kewen. Effects of different fruit bags on fruit russet formation and phenolic substances in ‘Shine Muscat’ grape[J]. *China Fruits*, 2023(12): 53-58.

[19] 娄玉穗, 张晓锋, 樊红杰, 王鹏, 吴文莹, 张柯, 吕中伟. 黄河故道地区阳光玫瑰葡萄合理产量负载研究[J]. *河南农业科学*, 2018, 47(12): 110-115.

LOU Yusui, ZHANG Xiaofeng, FAN Hongjie, WANG Peng, WU Wenying, ZHANG Ke, LÜ Zhongwei. Study on the proper yield load of shine Muscat grape in the old flooded area of Yellow River[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2018, 47(12): 110-115.

[20] MENDES-PINTO M M, SILVA FERREIRA A C, CARIS-VEYRAT C, GUEDES DE PINHO P. Carotenoid, chlorophyll, and chlorophyll-derived compounds in grapes and port wines[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(26): 10034-10041.

- [21] 陈瑶瑶, 严良文, 刘建汀, 刘智成, 余洁, 郑作芸, 朱海生. 黄秋葵果实发育过程中细胞壁组成成分、糖代谢及相关酶活性的变化[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(5): 1217-1224.
- CHEN Yaoyao, YAN Liangwen, LIU Jianting, LIU Zhicheng, YU Jie, ZHENG Zuoyun, ZHU Haisheng. Developmental changes of okra fruits in cell wall composition, saccharometabolism and related enzymatic activities[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2023, 39(5): 1217-1224.
- [22] 李晶. 主要黄绿色苹果品种果锈发生机制与防控研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2022.
- LI Jing. Research on fruit rust occurrence mechanism and prevention and control of main yellow-green apple varieties[D]. Yantai: Yantai University, 2022.
- [23] 刘鹿宁, 赵秋月, 葛聪, 田志娇, 周晓俐, 阮蠢龙, 庄木来, 李延, 王平. 木质素生物合成途径相关基因调控瑯溪蜜柚汁胞粒化的研究[J]. 果树学报, 2023, 40(3): 432-441.
- LIU Luning, ZHAO Qiuyue, GE Cong, TIAN Zhijiao, ZHOU Xiaoli, RUAN Zhulong, ZHUANG Mulai, LI Yan, WANG Ping. The genes related to lignin biosynthesis pathway regulate juice sac granulation in Guanxi pomelo[J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(3): 432-441.
- [24] 杨王莉, 李晓刚, 杨青松, 蔺经, 盛宝龙, 常有宏, 王宏. 早熟砂梨苏翠1号与其亲本成熟期果皮差异代谢产物鉴定及相关差异基因表达分析[J]. 果树学报, 2022, 39(11): 1989-2006.
- YANG Wangli, LI Xiaogang, YANG Qingsong, LIN Jing, SHENG Baolong, CHANG Youhong, WANG Hong. Comparative metabolic and transcriptomic analysis of the pericarp of Sucui 1, Cuiguan and Huasu pears[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(11): 1989-2006.
- [25] WANG Z Q, LIU S S, HUO W P, CHEN M, ZHANG Y G, JIANG S H. Transcriptome and metabolome analyses reveal phenotype formation differences between russet and non-russet apples[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 1057226.
- [26] HUANG Y, LIANG D, XIA H, LIN L J, WANG J, LV X L. Lignin and quercetin synthesis underlies berry russetting in 'Sunshine Muscat' grape[J]. Biomolecules, 2020, 10(5): 690.
- [27] FORNARA V, ONELLI E, SPARVOLI F, ROSSONI M, AINA R, MARINO G, CITTERIO S. Localization of stilbene synthase in *Vitis vinifera* L. during berry development[J]. Protoplasma, 2008, 233(1/2): 83-93.
- [28] SHI C H, WANG X Q, XU J F, ZHANG Y X, QI B X, JUN L. Dissecting the molecular mechanism of russetting in sand pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) by metabolomics, transcriptomics, and proteomics[J]. The Plant Journal, 2021, 108(6): 1644-1661.
- [29] HENG W, LIU L, WANG M D, JIA B, LIU P, YE Z F, ZHU L W. Differentially expressed genes related to the formation of russet fruit skin in a mutant of 'Dangshansuli' pear (*Pyrus bretchnederi* Rehd.) determined by suppression subtractive hybridization[J]. Euphytica, 2014, 196(2): 285-297.
- [30] WANG Q, WU X Y, LIU L, YAO D Z, LI J C, FANG J, CHEN X N, ZHU L W, LIU P, YE Z F, JIA B, HENG W. Transcriptome and metabolomic analysis to reveal the browning spot formation of 'Huangguan' pear[J]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 321.
- [31] 梁迪, 杨晓虹, 王娜, 孙焯. 黄酮醇类化合物药理活性的研究进展[C]//增强自主创新能力 促进吉林经济发展——启明杯·吉林省第四届科学技术学术年会论文集(下册). 长春: 吉林大学出版社, 2006: 979-981.
- LIANG Di, YANG Xiaohong, WANG Na, SUN Ye. Research progress on the pharmacological activity of flavonol compounds[C]. The 4th Jilin Province Science and Technology Academic Annual Conference, Changchun: Jilin University Press, 2006: 979-981.
- [32] 李赵菊, 沈秋雨, 周旭红, 王苗苗, 郑永仁. 不同花色香石竹在发育过程中花青素、总黄酮及山奈酚糖苷的含量变化[J]. 现代园艺, 2024, 47(7): 43-47.

LI Zhaoju, SHEN Qiuyu, ZHOU Xuhong, WANG Miaomiao, ZHENG Yongren. Changes of anthocyanin, total flavonoids and kaempferol glycoside contents during the development of carnation with different flower colors[J]. Contemporary Horticulture, 2024, 47(7): 43-47.