

# 不同成熟度树葡萄叶片中类黄酮合成转录组基因分析

张少平<sup>1,2</sup>, 郑开斌<sup>1,2</sup>, 洪佳敏<sup>1</sup>, 林宝妹<sup>1</sup>, 张帅<sup>1</sup>, 邱珊莲<sup>1\*</sup>

(1. 福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建 漳州 363005; 2. 福建省农业科学院作物研究所, 福州 350013)

**摘要:** 为了解树葡萄(*Myrciaria cauliflora*)类黄酮合成相关酶差异表达基因信息, 对其幼叶和成熟叶进行全转录组测序并比较分析。结果表明, 从树葡萄幼叶和成熟叶中获得 59 321 条单基因簇(Unigenes), 在 8 大数据库共注释到 32 912 条 Unigenes 信息, 其中类黄酮合成代谢相关酶基因 77 个, 在成熟叶片中显著下调表达的基因 6 个, 包括 2 个 *CHI*、1 个 *CHS*、1 个 *F3H*、1 个 2-羟基异黄酮脱水酶基因和 1 个 *ANS*。5 个差异表达基因经 qRT-PCR 验证的结果与转录组测序结果相符合。因此, 树葡萄叶片中含有大量不同种类黄酮合成代谢相关酶家族基因, 成熟叶片中类黄酮含量显著减少是由于少量相关基因显著下调。

**关键词:** 树葡萄; 叶片; 类黄酮; 转录组基因

doi: 10.11926/jtsb.4040

## Transcriptome Analysis of Flavonoid Synthesis Related Genes in Different Maturity Leaves of *Myrciaria cauliflora*

ZHANG Shao-ping<sup>1,2</sup>, ZHENG Kai-bin<sup>1,2</sup>, HONG Jia-min<sup>1</sup>, LIN Bao-mei<sup>1</sup>, ZHANG Shuai<sup>1</sup>, QIU Shan-lian<sup>1\*</sup>

(1. Subtropical Agriculture Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou 363005, Fujian, China; 2. Crop Sciences Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China)

**Abstract:** The flavonoid content in immature leaves was significantly higher than that in mature leaves of *Myrciaria cauliflora*. In order to understand the information of differentially expressed genes related flavonoid synthesis in *M. cauliflora*, the transcriptome of 2 kinds of leaves were sequenced by Illumina HiSeq method. The results showed that there were 59 321 Unigenes obtained from young and mature leaves, among which 32 912 unigenes were annotated by 8 databases. There were 77 Unigenes related flavonoid anabolism, and 6 genes were down-regulated significantly in mature leaves, including two *CHIs*, one *CHS*, one *F3H*, one 2-hydroxyiso-flavanone dehydratase gene and one *ANS*. The RT-PCR verified results of five differentially expressed genes were agreed with the transcriptome sequencing. So, it was suggested that there were a large number of family genes related flavonoid anabolism in the leaves of *M. cauliflora*, but the decrease of flavonoid content in mature leaves was due to several down-regulated genes.

**Key words:** *Myrciaria cauliflora*; Leaf; Flavonoid; Transcriptome gene

树葡萄(*Myrciaria cauliflora*)俗称珍宝果、嘉宝果、拟爱神木等, 为桃金娘科(Myrtaceae)拟爱神木属常绿灌木或乔木, 原产于巴西等南美地区<sup>[1]</sup>。我国对树葡萄引种栽培较早的地区始于台湾<sup>[2]</sup>, 近年

收稿日期: 2019-01-16 接受日期: 2019-03-16

基金项目: 福建省农业科学院创新团队项目(STIT2017-2-11); 福建省农业科学院青年创新团队项目(STIT2017-3-14); 福建省公益类科研院所专项(2017R1024-1)资助

This work was supported by the Project for Innovation Team of Fujian Academy of Agricultural Sciences (FAAS) (Grant No. STIT2017-2-11), the Project for Youth Innovation Team of FAAS (Grant No. STIT2017-3-14), and the special Project for Public Welfare Research Institutes in Fujian (Grant No.2017R1024-1)

作者简介: 张少平(1975~), 男, 硕士, 高级农艺师, 主要从事特色植物功能成分相关研究。E-mail: zspnc@163.com

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: slqiu79@163.com

来,随着人们对树葡萄的青睐,福建沿海等地也逐渐出现较大面积引种栽培<sup>[3]</sup>。树葡萄一年可多次开花,但果实盛产期集中在春秋两季,花果主要着生于树干或粗壮的枝条上。树葡萄不仅是集果实食用和观赏为一体的名贵优良树种<sup>[4]</sup>,而且全株(包括根、茎、叶、花和果实)富含类黄酮等活性成分<sup>[5-6]</sup>,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤及降低胆固醇和降血糖血脂等多种功效<sup>[7-9]</sup>。类黄酮是植物中多酚类次生代谢产物<sup>[10]</sup>,主要成分包括查尔酮、黄烷酮、黄酮、异黄酮、二氢黄酮、黄酮醇及花青苷等<sup>[11-13]</sup>。

类黄酮合成代谢途径涉及的酶主要包括查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)、查尔酮异构酶(chalcone isomerase, CHI)、黄烷酮 3-羟化酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H)(或黄酮醇合成酶 flavonol synthase, FLS)、类黄酮 3'-羟化酶(flavonoid 3-hydroxylase, F3'H)(或类黄酮 3-单加氧酶 flavonoid 3-monooxygenase)、类黄酮 3',5'-羟化酶(flavonoid 3,5-hydroxylase, F3',5'H)、二氢黄酮醇 4-还原酶(dihydroflavonol/flavone 4-reductase, DFR)、黄酮合成酶(flavone synthase, FSI 和 FSII)、异黄酮还原酶(isoflavone reductase, IFR)、异黄酮合成酶(isoflavone synthase, IFS)(或异黄酮羟化酶 isoflavone hydroxylase)、花青素合成酶(anthocyanidin synthase, ANS)(或无色花色素双加氧酶 leucoanthocyanidin dioxygenase, LDOX)、花青素 3-O-糖基转移酶(anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase, 3GT)(或类黄酮 3-O-糖基转移酶 flavonoid 3-O-glucosyltransferase; 或 UDP-葡萄糖 UDP-glucose)、无色花色素还原酶(leucoanthocyanidin reductase, LAR)、花青素还原酶(anthocyanidin reductase, ANR)等<sup>[14-16]</sup>。近年来,有关树葡萄的研究大多集中在栽培管理、营养成分、药理功效及产品加工等方面<sup>[17-19]</sup>,而对树葡萄类黄酮代谢合成相关基因的研究还未见报道。树葡萄叶片富含类黄酮,尤以嫩叶含量最高<sup>[20-21]</sup>,因此,本研究将以树葡萄栽培种沙巴幼叶为对象,以成熟叶为对照,利用高通量测序技术进行转录组基因测序,通过不同数据库注释后再进行类黄酮合成代谢中所涉及关键酶基因检索,以期获得叶片中类黄酮合成代谢相关基因的种类、表达量及差异表达信息,为深入研究树葡萄或其他特色植物中类黄酮合成代谢奠定了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

从福建省农业科学院亚热带农业研究所天然产物源种质资源圃中,取15 a生树葡萄栽培种沙巴(*Myrciana cauliflora* 'Shaba')的嫩叶和成熟叶,嫩叶为春季新长出20 d内的叶片,红色;成熟叶为30~60 d的叶片,嫩绿色。两种叶片分别标号后送北京百迈克生物科技有限公司进行RNA提取、转录组测序、测序数据组装和差异表达基因的qRT-PCR验证等。

### 1.2 RNA 提取和高通量测序

采用 Trizol 法分别提取树葡萄嫩叶和成熟叶的总 RNA,各3份共6个样本,每个样本检测合格后取等量混匀组成1个 RNA 池,再分别进行带有 Oligo(dT)磁珠富集叶片 mRNA 并进行随机打断、反转录成双链 cDNA 再进行纯化和末端修复、加 A 尾后连接测序接头、PCR 富集制备测序文库及测序等。

应用 Illumina HiSeq 测序平台,构建树葡萄叶片转录组文库后,测序并获取相关数据。所得原始数据通过过滤去除接头序列及低质量读序以获取高质量的干净读序。将干净读序进行序列组装,最后获得树葡萄栽培种沙巴叶片的单基因簇(Unigenes)库。

### 1.3 功能注释及关键基因检索

转录组测序获取树葡萄叶片相关数据后,分别进行随机性检验和饱和度检验等测序文库质量评估,合格后的数据进行表达量分析。使用 BLAST 软件<sup>[22]</sup>对树葡萄叶片所有 Unigenes 在不同数据库进行功能注释,这些数据库有蛋白质直系同源数据库(cluster of orthologous groups, COG)、东京基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、基因本体论数据库(gene ontology, GO)、蛋白质真核同源数据库(euKaryotic orthologous groups, KOG)、蛋白质序列数据库(swiss-prot protein database, Swiss-Prot)、蛋白质家族域数据库(protein families database, Pfam)、直系同源蛋白的功能描述和功能分类(evolutionary genealogy of genes: Non-supervised orthologous groups, eggNOG)和非冗余蛋白数据库(non-redundant protein database, NR)。经

数据库注释后,进一步在 Swiss-Prot 和 NR 数据库进行类黄酮合成相关基因检索分析,以期获得树葡萄幼叶和成熟叶片中类黄酮合成基因种类和表达量。

#### 1.4 差异表达基因的 qRT-PCR 分析验证

通过 qRT-PCR 检测 2 个树葡萄样本在转录组测

序中差异表达的 5 个类黄酮合成相关基因(表 1)的表达。首先,树葡萄幼叶和成熟叶各取 1  $\mu\text{g}$  RNA,使用 TransScript II All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (One-Step gDNA Removal) (货号: AH341)试剂盒,根据试剂盒说明书的方法进行反转录成 cDNA。然后应用 SYBRGreen 染料进行 qRT-PCR 检测分析,均设置 3 次重复。

表 1 qRT-PCR 分析的 5 个基因和引物

Table 1 qRT-PCR primers for 5 selected genes

编码 ID	基因 Gene	引物序列 Primer sequence (5'~3')
C89846	内参基因 <i>Actin</i>	F: CCATAGGAGCCATGATTACC R: CCTCTCTCCAAGTAGCATTC
C94118	查尔酮合成酶 <i>Chalcone synthase</i>	F: TGCTCTTGTAACAATTCAGCTG R: CGACACATCCTGACTCAGTC
C97204	花青素 3-O-糖基转移酶 <i>Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase</i>	F: CGACGAGAGGCAGATGCTTG R: CTTCTTCGTGGCTAAGTACTG
C91420	黄烷酮 3-羟化酶 <i>Flavanone 3-hydroxylase</i>	F: CTCGACGGACTTGGACTCC R: TCTTCCAGGTCGTCAACCAC
C87717	2-羟基异黄烷酮脱水酶 <i>2-Hydroxyisoflavanone dehydratase</i>	F: GCGAGGCGGTGAAGGAGAG R: GCAGCCAATCGCTTGATCAG
C87867	花青素合成酶 <i>Anthocyanidin synthase</i>	F: TGTCACTGCATGCTCATCTG R: GCGGTGTGATGGAAGGCAAC

## 2 结果和分析

### 2.1 测序分析

通过对树葡萄幼叶和成熟叶转录组进行测序和合并组装,共获得 16.53 Gb 的 clean data,各样品的 clean data 均达到 7.30 Gb, Q30 碱基  $\geq 92.83\%$ 。

组装后共获得 59 321 条 Unigenes,其中长度在 1 kb 以上的有 17 623 条。所有 Unigenes 通过 COG、KEGG、GO、KOG、Swiss-Prot、Pfam 和 NR 等数据库进行注释比对,共有 32 912 条注释,其中长度在 300 bp~1 kb 的 Unigenes 为 17 592 条,而长度大于 1 kb 的有 15 320 条(表 2)。

表 2 数据库注释的 Unigenes 数量

Table 2 Number of annotated Unigenes by databases

数据库 Database	Unigene	300~1 000 bp	$\geq 1 000$ bp
COG	11 600	5 119	6 481
KEGG	11 790	5 621	6 169
GO	14 667	7 822	6 845
KOG	17 181	8 038	9 143
Swiss-prot	19 832	8 487	11 345
Pfam	25 769	9 933	15 836
eggNOG	29 712	14 914	14 798
NR	32 652	17 368	15 284
总和 Total	32 912	17 592	15 320

### 2.2 类黄酮相关基因分析

#### 2.2.1 查尔酮合成酶相关基因

所有 32 912 条 Unigenes 通过 chalcone (查尔酮)关键词检索,依据 NR 和 Swiss-Prot 数据库分析,共获得 9 个查尔酮合成酶相关基因(表 3),包括 3 个 *CHI* 和 6 个 *CHS* 基因。差异表达极显著下调的基因有 3 个,包括 2 个 *CHI* (编码 c93272 和 c86311)和 1

个 *CHS* 基因(编码 c94118),这 3 个查尔酮相关核心基因在树葡萄幼叶中的 FPKM 值明显高于成熟叶片;同时,上述 9 条 Unigenes 在 NR 数据库匹配的物种主要有巨桉(*Eucalyptus grandis*, 6 条),而在 Swiss-Prot 数据库匹配的物种有拟南芥(*Arabidopsis thaliana*, 2 条)和茶树(*Camellia sinensis*, 2 条)等 7 种植物。

表 3 9 个查尔酮合成酶相关基因

Table 3 Nine related genes of chalcone synthase

编码 ID	FPKM		NR		Swiss-Prot	
	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf	基因 Gene	匹配物种 Matching species	基因 Gene	匹配物种 Matching species
c93272	246.75	10.79	查尔酮-黄烷酮异构酶 Chalcone-flavonone isomerase	巨桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	查尔酮-黄烷酮异构酶 Chalcone-flavonone isomerase	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>
c86311	324.91	25.26	查尔酮-黄烷酮异构酶 Chalcone-flavonone isomerase	巨桉 <i>E. grandis</i>	查尔酮-黄烷酮异构酶 Chalcone-flavonone isomerase	茶树 <i>Camellia sinensis</i>
c62863	0.20	0.97	查尔酮-黄烷酮异构酶 Chalcone-flavonone isomerase	油菜 <i>Brassica napus</i>	查尔酮-黄烷酮异构酶 Chalcone-flavonone isomerase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c94118	2 898.76	184.35	查尔酮合酶 Chalcone synthase	石榴 <i>Punica granatum</i>	查尔酮合酶 Chalcone synthase	茶树 <i>C. sinensis</i>
c53140	662.93	218.05	假定蛋白 Hypothetical protein	巨桉 <i>E. grandis</i>	查尔酮合酶 Chalcone synthase	大麦 <i>Hordeum vulgare</i>
c91200	3.90	4.46	查尔酮合酶 Chalcone synthase	萝卜 <i>Raphanus sativus</i>	查尔酮合酶 Chalcone synthase	白芥 <i>Sinapis alba</i>
c120343	0.20	0.20	查尔酮合酶 Chalcone synthase	巨桉 <i>E. grandis</i>	聚酮合酶 Polyketide synthase	红树莓 <i>Rubus idaeus</i>
c100299	0.20	1.81	查尔酮合酶 Chalcone synthase	巨桉 <i>E. grandis</i>	查尔酮合酶 Chalcone synthase	葡萄 <i>Vitis vinifera</i>
c105512	0.20	0.95	查尔酮合酶 Chalcone synthase	巨桉 <i>E. grandis</i>	查尔酮合酶 Chalcone synthase	非洲菊 <i>Gerbera hybrida</i>

2.2.2 类黄酮相关基因

通过 flavonoid(类黄酮)关键词检索, 依据 NR 及 Swiss-Prot 数据库分析, 共获得 6 个类黄酮相关基因(表 4), 包括 3 个 *F3'H* 和 3 个 *F3',5'H* 基因, 这些基因在树葡萄幼叶和成熟叶中的表达差异不显

著, 因此, 该两类家族基因在树葡萄叶片中无差异表达。6 条 Unigenes 在 NR 数据库匹配的物种均是巨桉, 而在 Swiss-Prot 数据库匹配的物种有矮牵牛 (*Petunia hybrid*, 5 条)和茄子(*Solanum melongena*, 1 条)。

表 4 6 个类黄酮相关基因

Table 4 Six related genes of flavonoids

编码 ID	FPKM		NR		Swiss-Prot	
	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf	基因 Gene	匹配物种 Matching species	基因 Gene	匹配物种 Matching species
c89999	516.35	121.62	类黄酮 3-单加氧酶 Flavonoid 3-monooxygenase	巨桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	类黄酮 3-单加氧酶 Flavonoid 3-monooxygenase	矮牵牛 <i>Petunia hybrida</i>
c91045	10.36	24.27	类黄酮 3-单加氧酶 Flavonoid 3-monooxygenase	巨桉 <i>E. grandis</i>	类黄酮 3-单加氧酶 Flavonoid 3-monooxygenase	矮牵牛 <i>P. hybrida</i>
c91045	6.91	8.14	假定蛋白 Hypothetical protein	巨桉 <i>E. grandis</i>	类黄酮 3-单加氧酶 Flavonoid 3-monooxygenase	矮牵牛 <i>P. hybrida</i>
c93743	209.11	70.40	类黄酮 3',5'-羟化酶 Flavonoid 3',5'-hydroxylase	巨桉 <i>E. grandis</i>	类黄酮 3',5'-羟化酶 Flavonoid 3',5'-hydroxylase	矮牵牛 <i>P. hybrida</i>
c92395	82.00	52.85	类黄酮 3',5'-羟化酶 Flavonoid 3',5'-hydroxylase	巨桉 <i>E. grandis</i>	类黄酮 3',5'-羟化酶 Flavonoid 3',5'-hydroxylase	茄子 <i>Solanum melongena</i>
c91311	20.13	113.97	7-乙氧香豆素-O-脱乙酰酶 7-Ethoxycoumarin-O-deethylase	巨桉 <i>E. grandis</i>	类黄酮 3',5'-羟化酶 Flavonoid 3',5'-hydroxylase	矮牵牛 <i>P. hybrida</i>

2.2.3 黄酮相关基因

通过 flavone (黄酮)关键词检索, 依据 NR 及 Swiss-Prot 数据库分析, 共获得 10 个黄酮相关基因(表 5), 包括 5 个 *IFR*、4 个 *IFS* 和 1 个黄酮 3-O-酰

基转移酶基因。这些基因在树葡萄幼叶和成熟叶的差异表达不显著, 但这些黄酮相关基因在幼叶的 FPKM 值普遍低于成熟叶。这 10 条 Unigenes 在 NR 数据库匹配的物种主要为巨桉(7 条); 而在 Swiss-

Prot 数据库中, 3 个 *IFR* 基因匹配油橄榄(*Olea europaea*), *IFS* 基因分别匹配甘草(*Glycyrrhiza echinat*, 2) 和苜蓿(*Medicago truncatula*, 2)。

#### 2.2.4 黄烷酮相关基因

通过 flavanone (黄烷酮)关键词检索, 依据 NR 和 Swiss-Prot 数据库注释分析, 共获得 11 个黄烷酮相关基因(表 6), 包括 4 个 *F3H*、6 个 2-羟基异黄烷酮脱水酶和 1 个黄烷酮鼠李糖转移酶基因。这些基因在树葡萄幼叶和成熟叶片的差异表达极显著下调的有 2 个, 分别为 *F3H* (编码 c91420) 和 2-羟基异黄烷酮脱水酶基因(编码 c87717), 其他基因差异表达不显著。这 11 条 Unigenes 在 NR 数据库匹配的物种主要为巨桉(9 条), 而在 Swiss-Prot 数据库匹配的物种有大豆(*Glycine max*, 2 条)、拟南芥(2 条)和甘草(2 条)等 8 种植物。

#### 2.2.5 黄酮醇相关基因

通过 flavonol (黄酮醇)关键词检索, 依据 NR 及 Swiss-Prot 数据库注释分析, 共获得 9 个 *DFR* 基因

信息(表 7)。这些 *DFR* 基因在树葡萄幼叶和成熟叶片的差异表达均不明显, 除编码 c82886 的基因外, 其他 *DFR* 基因在幼叶的 FPKM 普遍低于成熟叶。同时, 这 9 条 Unigenes 在 NR 数据库匹配的物种较多, 有菌类、草本和木本植物等 7 种, 而在 Swiss-Prot 数据库匹配的物种有拟南芥(4 条)和水稻(*Oryza sativa*, 2 条)等 4 种植物。

#### 2.2.6 花青素相关基因

通过 anthocyanidin (花青素)和相关基因等关键词检索, 依据 NR 及 Swiss-Prot 数据库注释分析, 共获得 32 个花青素相关基因信息(表 8), 包括 18 个花青素相关糖基转移酶、4 个花青素相关酰基转移酶、5 个 *ANR* 和 4 个 *ANS* 基因。其中花青素相关糖基转移酶基因包括 13 个 *3GT* 和 5 个花青素 5,3-*O*-糖基转移酶基因; 花青素相关酰基转移酶包括 3 个花青素 3-*O*-糖基 6-*O*-酰基转移酶和 1 个花青素酰基转移酶基因。这些花青素相关基因在树葡萄幼叶和成熟叶片的差异表达极显著下调的只有编码 c87867 的

表 5 10 个黄酮相关基因

Table 5 Ten related genes of flavones

编码 ID	表达量 FPKM		NR 基因 Gene	匹配物种 Matching species	Swiss-Prot 基因 Gene	匹配物种 Matching species
	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf				
c94129	58.7	45.26	唇腭裂跨膜蛋白 Cleft lip and palate transmembrane protein	巨桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	异黄酮还原酶 Isoflavone reductase	白羽扇豆 <i>Lupinus albus</i>
c86513	50.98	134.31	假定蛋白 Hypothetical protein	巨桉 <i>E. grandis</i>	异黄酮还原酶 Isoflavone reductase	油橄榄 <i>Olea europaea</i>
c95833	14.55	27.89	异黄酮还原酶 Isoflavone reductase	巨桉 <i>E. grandis</i>	异黄酮还原酶 Isoflavone reductase	油橄榄 <i>O. europaea</i>
c95833	10.97	28.26	异黄酮还原酶 Isoflavone reductase	巨桉 <i>E. grandis</i>	异黄酮还原酶 Isoflavone reductase	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>
c98269	0.39	0.52	假定蛋白 Hypothetical protein	巨桉 <i>E. grandis</i>	异黄酮还原酶 Isoflavone reductase	油橄榄 <i>O. europaea</i>
c7258	0.50	0.44	<i>O</i> -甲基半乳曲霉毒素还原酶 <i>O</i> -methylsterigmatocystin oxidoreductase	鸡枞菌 Termitomyces	异黄酮 2-羟化酶 Isoflavone 2-hydroxylase	苜蓿 <i>Medicago truncatula</i>
c95194	0.20	10.63	异黄酮 2-羟化酶 Isoflavone 2-hydroxylase	巨桉 <i>E. grandis</i>	细胞色素 P450 Cytochrome P450	苜蓿 <i>M. truncatula</i>
c100771	0.20	1.86	假定蛋白 Hypothetical protein	外瓶菌 <i>Exophiala aquamarina</i>	异黄酮 2-羟化酶 Isoflavone 2-hydroxylase	甘草 <i>Glycyrrhiza echinat</i>
c52401	0.20	1.13	细胞色素 P450 Cytochrome P450	巨桉 <i>E. grandis</i>	异黄酮 2-羟化酶 Isoflavone 2-hydroxylase	甘草 <i>G. echinata</i>
c52618	0.20	0.91	黄酮 3- <i>O</i> -酰基转移酶 Flavone 3- <i>O</i> -methyltransferase	油菜 <i>Brassica napus</i>	黄酮 3- <i>O</i> -酰基转移酶 Flavone 3- <i>O</i> -methyltransferase	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>

表 6 11 个黄烷酮相关基因

Table 6 Eleven related genes of flavanones

编码 ID	表达量 FPKM		NR		Swiss-Prot	
	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf	基因 Gene	匹配物种 Matching species	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf
c91420	317.76	3.23	黄烷酮 3-羟化酶 Flavanone 3-hydroxylase	巨桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	黄烷酮 3-羟化酶 Flavanone 3-hydroxylase	温州蜜柑 <i>Citrus unshiu</i>
c90553	7.93	9.45	黄烷酮 3-羟化酶 Flavanone 3-hydroxylase	巨桉 <i>E. grandis</i>	依赖 Fe <sup>2+</sup> 双加氧酶 Fe(II)-dependent dioxygenase	罂粟 <i>Papaver somniferum</i>
c84372	2.18	2.06	黄烷酮 3-羟化酶 Flavanone 3-hydroxylase	巨桉 <i>E. grandis</i>	黄烷酮 3-羟化酶 Flavanone 3-hydroxylase	洋桔梗 <i>Eustoma exaltatum</i>
c72196	0.14	1.33	黄烷酮 3-羟化酶 Flavanone 3-hydroxylase	油菜 <i>Brassica napus</i>	柚皮苷双加氧酶 Naringenin dioxygenase	紫罗兰 <i>Matthiola incana</i>
c87717	81.39	5.82	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	巨桉 <i>E. grandis</i>	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	甘草 <i>Glycyrrhiza echinata</i>
c82951	58.39	42.19	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	巨桉 <i>E. grandis</i>	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	甘草 <i>G. echinata</i>
c86714	15.87	17.57	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	巨桉 <i>E. grandis</i>	羧酸酯酶 Carboxylesterase	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>
c86714	5.53	8.10	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	巨桉 <i>E. grandis</i>	羧酸酯酶 Carboxylesterase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c72842	1.13	6.33	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	巨桉 <i>E. grandis</i>	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	大豆 <i>Glycine max</i>
c118940	0.00	0.61	羧酸酯酶 Carboxylesterase	巨桉 <i>E. grandis</i>	2-羟基异黄烷酮脱水酶 2-Hydroxyisoflavanone dehydratase	大豆 <i>G. max</i>
c93094	0.32	6.44	黄烷酮鼠李糖转移酶 Flavanone rhamnosyltransferase	葡萄 <i>Vitis vinifera</i>	西红花糖基转移酶 Crocin glucosyltransferase	梔子 <i>Gardenia jasminoides</i>

表 7 9 个黄酮醇相关基因

Table 7 Nine related genes of flavonols

编码 ID	表达量 FPKM		NR		Swiss-Prot	
	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf	基因 Gene	匹配物种 Matching species	基因 Gene	匹配物种 Matching species
c82886	375.05	69.16	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	桃金娘 <i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	葡萄 <i>Vitis vinifera</i>
c90359	13.96	13.12	无特征蛋白 Uncharacterized protein	巨桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	翠菊 <i>Callistephus chinensis</i>
c73095	1.33	0.20	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	巨桉 <i>E. grandis</i>	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>
c105787	0.51	0.67	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	萝卜 <i>Raphanus sativus</i>	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c82208	0.20	4.03	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	霉菌 <i>Capronia coronata</i>	肉桂酰辅酶 A 还原酶 Cinnamoyl-CoA reductase	水稻 <i>Oryza sativa</i>
c70965	0.20	3.25	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	石生真菌 <i>Coniosporium apollinis</i>	四酮吡喃酮还原酶 Tetraketide pyrone reductase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c19008	0.20	1.16	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	石生真菌 <i>C. apollinis</i>	肉桂酰辅酶 A 还原酶 Cinnamoyl-CoA reductase	水稻 <i>O. sativa</i>
c115287	0.20	0.78	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	芜菁 <i>Brassica rapa</i>	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c114959	0.20	0.59	二氢黄酮醇 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	深海真菌 <i>Phialocephala subalpina</i>	-	-

表 8 32 个花青素合成酶相关基因

Table 8 Thirty-two related genes of anthocyanidins synthesis

编码 ID	FPKM		NR		Swiss-Prot	
	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf	基因 Gene	匹配物种 Matching species	基因 Gene	匹配物种 Matching species
c80496	175.13	40.91	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	UDP-糖基转移酶 UDP-glycosyltransferase	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>
c91591	144.53	37.16	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	葡萄 <i>Vitis vinifera</i>
c44283	26.66	3.33	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	-	-
c97204	22.85	163.99	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	草莓 <i>Fragaria ananassa</i>
c96864	11.24	11.08	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	木薯 <i>Manihot esculenta</i>
c91497	5.95	29.25	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	木薯 <i>M. esculenta</i>
c97734	5.41	3.66	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	草莓 <i>F. ananassa</i>
c85595	4.18	18.71	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	UDP-糖基转移酶 UDP-glycosyltransferase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c85190	3.30	3.05	东莨菪亭糖基转移酶 Scopoletin glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	草莓 <i>F. ananassa</i>
c69331	1.04	0.20	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	木薯 <i>M. esculenta</i>
c86928	0.19	2.53	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	UDP-糖基转移酶 UDP-glycosyltransferase	苹果 <i>Malus domestica</i>
c91374	0.20	11.40	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	木薯 <i>M. esculenta</i>
c66255	0.20	1.18	花青素 3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	-	-
c90448	83.41	81.96	花青素 5,3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 5,3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O- glucosyltransferase	玫瑰 <i>Rosa rugosa</i>
c92782	3.12	0.20	花青素 5,3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O- glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	-	-
c75107	1.47	0.93	花青素 5,3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O- glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 5,3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O- glucosyltransferase	玫瑰 <i>R. rugosa</i>
c101010	1.20	0.95	花青素 5,3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O- glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	UDP-糖基转移酶 UDP-glycosyltransferase	甜叶菊 <i>Stevia rebaudiana</i>
c71615	0.20	6.01	花青素 5,3-O-糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O- glucosyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	-	-
c88788	50.82	128.37	花青素 3-O-糖基 6-O-酰基转移酶 Anthocyanidin3-O-glucoside 6-O-coumaroyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	E3 泛素蛋白连接酶 E3 ubiquitin-protein ligase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c88146	2.05	5.68	花青素 3-O-糖基 6-O-酰基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucoside 6-O-acyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基 6-O-酰基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucoside 6-O- coumaroyltransferase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c71582	0.33	6.42	花青素 3-O-糖基-6-O-酰基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucoside 6-O-coumaroyltransferase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素 3-O-糖基-6-O-酰基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucoside 6-O- coumaroyltransferase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c46932	0.89	0.85	假定蛋白 Hypothetical protein	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素酰基转移酶 Anthocyanidin coumaroyltransferase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c96078	166.21	37.71	花青素还原酶 Anthocyanidin reductase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素还原酶 Anthocyanidin reductase	葡萄 <i>V. vinifera</i>

续表(Continued)

编码 ID	FPKM		NR		Swiss-Prot	
	幼叶 Young leaf	成熟叶 Mature leaf	基因 Gene	匹配物种 Matching species	基因 Gene	匹配物种 Matching species
c53490	0.20	1.59	丙酮醛还原酶 Methylglyoxal reductase	酵母菌 <i>Zyoseptoria brevis</i>	花青素还原酶 Anthocyanidin reductase	葡萄 <i>V. vinifera</i>
c81302	0.20	2.50	假定蛋白 Hypothetical protein	芭蕉球腔菌 <i>Mycosphaerella eumusae</i>	花青素还原酶 Anthocyanidin reductase	葡萄 <i>V. vinifera</i>
c120842	0.20	1.14	假定蛋白 Hypothetical protein	担子菌 <i>Leucosporidium creatinivorum</i>	花青素还原酶 Anthocyanidin reductase	葡萄 <i>V. vinifera</i>
c105495	0.20	1.42	假定蛋白 Hypothetical protein	威尼克外瓶霉 <i>Hortaea werneckii</i>	花青素还原酶 Anthocyanidin reductase	葡萄 <i>V. vinifera</i>
c87867	688.83	6.17	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c92975	317.35	66.30	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	银叶山蚂蝗 <i>Desmodium uncinatum</i>
c92506	15.31	19.29	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	巨桉 <i>E. grandis</i>	2-酮戊二酸双加氧酶 2-Oxoglutarate dioxygenase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>
c88487	8.33	10.21	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	巨桉 <i>E. grandis</i>	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	银叶山蚂蝗 <i>D. uncinatum</i>
c76157	0.60	1.29	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	油菜 <i>Brassica napus</i>	花青素合成酶 Anthocyanidin synthase	拟南芥 <i>A. thaliana</i>

ANS 基因。27 个 Unigenes 在 NR 数据库匹配的物种为巨桉(只有 4 个 ANR 和 1 个 ANS 匹配为其他物种);而在 Swiss-Prot 数据库中,花青素相关糖基转移酶基因匹配的物种有木薯(*Manihot esculenta*)、草莓(*Fragaria ananassa*)和拟南芥等 7 种植物,4 个花青素相关酰基转移酶基因匹配的物种均为拟南芥,5 个 ANR 匹配的物种均为葡萄(*Vitis vinifera*),5 个 ANS 匹配的物种有拟南芥(3)和银叶山蚂蝗(*Desmodium uncinatum*, 2)。

### 2.3 差异表达基因的 qRT-PCR 验证

选择差异表达显著的 5 个类黄酮合成酶相关基因进行 qRT-PCR 分析,这 5 个基因包括上调基因花青素 3-O-糖基转移酶(编码 C97204)以及 4 个下调基因,如查尔酮合成酶(编码 C94118)、黄酮酮 3-羟化酶(编码 C91420)、2-羟基异黄酮脱水酶(编码 C87717)

和花青素合成酶基因(编码 C87867)。结果表明(表 9),上述基因在树葡萄幼叶及成熟叶片中的表达模式(上调或下调)与转录组测序结果完全吻合,只是这两种检测结果的差异表达倍数略有不同。

### 3 结论和讨论

通过高通量测序分析,从树葡萄幼叶和成熟叶片中共获得 59 321 条 Unigenes,在 8 大数据库中 共有 32 912 条 Unigenes 获得功能注释,NR 数据库注释了 32 652 条 Unigenes,几乎覆盖了所有其他数据库,我们选择 NR 数据库对树葡萄叶片类黄酮合成相关酶基因进行分析。由于 NR 数据库整合标准比较宽松,冗余度较高<sup>[23]</sup>,而 Swiss-Prot 数据库中的蛋白质功能经过试验验证,注释的准确度高<sup>[23]</sup>,因此,本文选择 NR 和 Swiss-Prot 数据库进行共同注

表 9 差异表达基因的 qRT-PCR 分析

Table 9 qRT-PCR analysis of differentially expressed genes

		actin C89846	编码 ID				
			c94118	c97204	c91420	c87717	c87867
RNA-Seq	幼叶 Young leaf (A)	5.42	2898.76	22.85	317.76	81.39	688.83
	成熟叶 Mature leaf (B)	5.06	184.35	163.99	3.23	5.82	6.17
	A/B	1.08	15.72	0.13	99.30	13.98	111.64
qRT-PCR	幼叶 Young leaf (A)	1.95	887.02	5.79	595.94	469.25	379.19
	成熟叶 Mature leaf (B)	1.95	53.28	23.75	24.39	22.36	51.18
	A/B	1.00	16.65	0.25	24.43	20.99	7.41



释分析。这 2 个数据库注释到树葡萄中 77 个类黄酮合成酶相关基因信息, 包括查尔酮、类黄酮、黄酮、黄烷酮、黄酮醇及花青素等 6 大类共有 19 种, 其中查尔酮相关基因包括 *CHI* 和 *CHS*; 类黄酮相关基因包括 *F3'H* 和 *F3'5'H*; 黄酮相关基因包括 *IFR*、*IFS* 和黄酮 3-*O*-酰基转移酶; 黄烷酮相关基因包括 *F3H*、2-羟基异黄烷酮脱水酶和黄烷酮鼠李糖转移酶; 黄酮醇相关基因为 *DFR*; 花青素相关基因包括花青素相关糖基转移酶、花青素相关酰基转移酶、*ANR* 和 *ANS*。NR 和 Swiss-Prot 数据库注释的类黄酮合成酶相关基因均为 60 个, NR 数据库中有 17 条 Unigenes 没明确为类黄酮相关基因; Swiss-Prot 数据库中有 5 条 Unigenes 未注释到信息, 另有 12 条没明确为类黄酮相关基因。

在 NR 数据库注释的类黄酮合成酶相关基因中, 除 *DFR*、黄酮 3-*O*-酰基转移酶、黄烷酮鼠李糖转移酶和 *ANR* 等基因外, 其他类黄酮合成酶相关基因匹配的物种大多为巨桉, 尤其是 *F3'H*、*F3'5'H*、*IFR*、2-羟基异黄烷酮脱水酶、花青素相关糖基转移酶和花青素相关酰基转移酶等家族基因所匹配的物种全是巨桉。因此, 巨桉与树葡萄的大多数类黄酮合成酶相关基因亲缘关系较近。在 Swiss-Prot 数据库中, 类黄酮合成酶相关基因匹配的物种较多, 但 *F3'H* 家族成员匹配的均是矮牵牛, 而 *ANR* 家族成员匹配的均是葡萄, 这表明矮牵牛的 *F3'H* 家族基因和葡萄的 *ANR* 家族基因都进行了较为系统的研究。

通过比较树葡萄幼叶和成熟叶中类黄酮合成酶相关基因的 FPKM 值可知, 在 77 个类黄酮合成代谢相关酶基因中, 差异表达极显著的基因有 6 个, 且在成熟叶中均显著下调, 因此, 树葡萄嫩叶中类黄酮含量显著高于成熟叶是因为嫩叶中存在高表达量的 2 个 *CHI*、1 个 *CHS*、1 个 *F3H*、1 个 2-羟基异黄烷酮脱水酶基因和 1 个 *ANS*。然而, 类黄酮是植物重要的次生代谢产物之一<sup>[24-25]</sup>, 其含量除受合成代谢相关酶基因影响外<sup>[26-27]</sup>, 还与其转录因子调控密切相关<sup>[28]</sup>。目前, 已报道关于类黄酮合成代谢的转录因子主要有 MYB、bHLH 和 WD40 等<sup>[29]</sup>。因此, 本研究根据转录组测序数据, 进一步分析了树葡萄叶中的上述转录因子, 结果在获取的 283 个 MYB、88 个 bHLH 和 246 个 WD40 等三类家族基因转录因子中, 差异表达极显著的分别有 19、6 和 6 个。与树葡萄叶片类黄酮合成代谢差异显著的合成酶皆为正向调控不同, 这些差异表达极显著的三

类转录因子中存在 5 个 MYB、1 个 bHLH 和 1 个 WD40 共 7 个负向调控因子, 他们具体作用于哪个或哪些类黄酮合成酶还有待深入研究。

本研究从树葡萄类黄酮合成代谢相关酶中选取 5 个差异表达基因进行 qRT-PCR 验证, 结果与转录组测序相符合。因此, 本研究从树葡萄中获取的大量类黄酮合成相关不同家族基因及其在不同成熟度叶片中的差异表达情况, 结合其他高等植物中存在大量家族基因<sup>[30]</sup>, 说明树葡萄在进化过程中经过不断复制以及串联复制等, 获得了多拷贝不同家族的类黄酮合成相关基因, 而这些多拷贝家族成员中起促进或抑制相关基因的表达可能集中在该家族基因中的少数基因上, 大多数基因可能与树葡萄叶片类黄酮合成没有直接关系, 而是否存在其他间接联系还有待进一步深入研究。本研究进行树葡萄不同成熟度叶片转录组测序, 所获取的 6 个差异表达极显著下调基因, 为进一步深入研究树葡萄或其他特色植物中类黄酮合成代谢奠定了基础。

## 参考文献

- [1] NERI-NUMA I A, SORIANO S R A, PEREIRA A P A, et al. Small Brazilian wild fruits: nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest [J]. Food Res Int, 2018, 103: 345–360. doi: 10.1016/j.foodres.2017.10.053.
- [2] LIU Y J, FU J X, LIN Q H, et al. The introduction performance and cultivation techniques of jaboticaba “Sabara” [J]. S China Fruits, 2011, 40(4): 97–99. doi: 10.13938/j.issn.1007-1431.2011.04.022.  
刘友接, 傅加兴, 林旗华, 等. “莎芭拉”嘉宝果引种表现及栽培技术要点 [J]. 中国南方果树, 2011, 40(4): 97–99. doi: 10.13938/j.issn.1007-1431.2011.04.022.
- [3] LIN B M, ZHENG K B, ZHANG S, et al. Studies on antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of ethanol extracts from peels and seeds of jaboticaba at different maturities [J]. J Trop Subtrop Bot, 2018, 26(3): 233–240. doi: 10.11926/jtsb.3831.  
林宝妹, 郑开斌, 张帅, 等. 不同成熟度树葡萄果实醇提取物抗氧化和抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2018, 26(3): 233–240. doi: 10.11926/jtsb.3831.
- [4] TANG L, YUAN T T, ZHONG Q P. Analysis of nutritional components in *Myrciaria cauliflora* [J]. Nonwood For Res, 2014, 32(2): 120–124. doi: 10.14067/j.cnki.1003-8981.2014.02.019.  
唐丽, 袁婷婷, 钟秋平. 嘉宝果营养成分分析 [J]. 经济林研究, 2014, 32(2): 120–124. doi: 10.14067/j.cnki.1003-8981.2014.02.019.
- [5] QIU S L, LIN B M, HONG J M, et al. Comparative study of the anti-

- oxidant activity and the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of the ethanol extracts from different parts of jaboticaba plant [J]. *J Fruit Sci*, 2018, 35(3): 311–318. doi: 10.13925/j.cnki.gsxb.20170316.
- 邱珊莲, 林宝妹, 洪佳敏, 等. 树葡萄植株不同部位醇提物抗氧化及抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的比较研究 [J]. *果树学报*, 2018, 35(3): 311–318. doi: 10.13925/j.cnki.gsxb.20170316.
- [6] MORALES P, BARROS L, DIAS M I, et al. Non-fermented and fermented jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart.) pomaces as valuable sources of functional ingredients [J]. *Food Chem*, 2016, 208: 220–227. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.04.011.
- [7] PEREIRA L D, BARBOSA J M G, RIBEIRO da S A J, et al. Polyphenol and ellagitannin constituents of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and chemical variability at different stages of fruit development [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(6): 1209–1219. doi: 10.1021/acs.jafc.6b02929.
- [8] SILVA R M, PEREIRA L D, VÉRAS J H, et al. Protective effect and induction of DNA repair by *Myrciaria cauliflora* seed extract and pedunculagin on cyclophosphamide-induced genotoxicity [J]. *Mutat Res*, 2016, 810: 40–47. doi: 10.1016/j.mrgentox.2016.10.001.
- [9] HACKE A C M, GRANATO D, MACIEL L G, et al. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) seeds: Chemical characterization and extraction of antioxidant and antimicrobial compounds [J]. *J Food Sci*, 2016, 81(9): C2206–C2217. doi: 10.1111/1750-3841.13405.
- [10] NIE J Y, LÜ D G, LI J, et al. A preliminary study on the flavonoids in fruits of 22 apple germplasm resources [J]. *Sci Agric Sin*, 2010, 43(21): 4455–4462. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2010.21.015.
- 聂继云, 吕德国, 李静, 等. 22 种苹果种质资源果实类黄酮分析 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(21): 4455–4462. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2010.21.015.
- [11] CHEN J J, PENG Z X, SHI M Y, et al. Advances in on flavonoid composition and metabolism in citrus [J]. *Acta Hort Sin*, 2016, 43(2): 384–400. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2015-0689.
- 陈嘉景, 彭昭欣, 石梅艳, 等. 柑橘中类黄酮的组成与代谢研究进展 [J]. *园艺学报*, 2016, 43(2): 384–400. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2015-0689.
- [12] ZHANG K, LEI J, HE Y, et al. A flavonoids compound inhibits osteoclast differentiation by attenuating RANKL induced NFATc-1/c-Fos induction [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 61: 150–155. doi: 10.1016/j.intimp.2018.05.030.
- [13] XU H F, WANG N, JIANG S H, et al. Content and analysis of biosynthesis-related genes of flavonoid among four strains of *Malus sieversii* f. *neidzwetzkyana* F<sub>1</sub> population [J]. *Sci Agric Sin*, 2016, 49(16): 3174–3187. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2016.16.011.
- 许海峰, 王楠, 姜生辉, 等. 新疆红肉苹果杂种一代 4 个株系类黄酮含量及其合成相关基因表达分析 [J]. *中国农业科学*, 2016, 49(16): 3174–3187. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2016.16.011.
- [14] LU Q, PENG Y, ZHU C H, et al. Effect of thermal treatment on carotenoids, flavonoids and ascorbic acid in juice of orange cv. Cara [J]. *Food Chem*, 2018, 265: 39–48. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.05.072.
- [15] YIN L, GUAN E S, ZHANG Y B, et al. Chemical profile and anti-inflammatory activity of total flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch [J]. *Iran J Pharm Res*, 2018, 17(2): 726–734. doi: 10.22037/IJPR.2018.2197.
- [16] SEMAAN D G, IGOLI J O, YOUNG L, et al. Dataset on the kinetics of the inhibition of PTP1B by the flavonoids and pheophytin A from *Allophylus cominia* [J]. *Data Brief*, 2018, 17: 401–406. doi: 10.1016/j.dib.2018.01.057.
- [17] BALDIN J C, MUNEKATA P E S, MICHELIN E C, et al. Effect of microencapsulated jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract on quality and storage stability of mortadella sausage [J]. *Food Res Int*, 2018, 108: 551–557. doi: 10.1016/j.foodres.2018.03.076.
- [18] HSU J D, WU C C, HUNG C N, et al. *Myrciaria cauliflora* extract improves diabetic nephropathy via suppression of oxidative stress and inflammation in streptozotocin-nicotinamide mice [J]. *J Food Drug Anal*, 2016, 24(4): 730–737. doi: 10.1016/j.jfda.2016.03.009.
- [19] SERAGLIO S K T, SCHULZ M, NEHRING P, et al. Nutritional and bioactive potential of myrtaceae fruits during ripening [J]. *Food Chem*, 2018, 239: 649–656. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.118.
- [20] QIU S L, LIN B M, ZHENG K B, et al. Antioxidative activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of ethanol extracts of leaves of different cultivars of jaboticaba [J]. *J Fruit Sci*, 2017, 34(11): 1450–1457. doi: 10.13925/j.cnki.gsxb.20170141.
- 邱珊莲, 林宝妹, 郑开斌, 等. 不同品种树葡萄叶片醇提物抗氧化及抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性研究 [J]. *果树学报*, 2017, 34(11): 1450–1457. doi: 10.13925/j.cnki.gsxb.20170141.
- [21] LIN B M, QIU S L, ZHANG S P, et al. Antioxidant capacities of different leaf extracts of Jaboticaba cultivars [J]. *J NW Agric For Univ (Nat Sci)*, 2018, 46(9): 121–130. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2018.09.016.
- 林宝妹, 邱珊莲, 张少平, 等. 不同品种嘉宝果叶片提取物的抗氧化活性 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2018, 46(9): 121–130. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2018.09.016.
- [22] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHÄFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs [J]. *Nucl Acids Res*, 1997, 25(17): 3389–3402. doi: 10.1093/nar/25.17.3389.
- [23] ZHANG S P, HONG J J, QIU S L, et al. Sequencing and analysis of the transcriptome of *Gynura bicolor* [J]. *Acta Hort Sin*, 2016, 43(5): 935–

946. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0140.
- 张少平, 洪建基, 邱珊莲, 等. 紫背天葵高通量转录组测序分析 [J]. 园艺学报, 2016, 43(5): 935-946. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0140.
- [24] YAO Y F, ZHANG S P, LIAN D M, et al. Transcriptome sequencing and differential expression analysis of flavonoid metabolism in flowers and fruits of okra [J]. Acta Bot Boreali-Occid Sin, 2018, 38(11): 2000-2009. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2018.11.2000.
- 姚运法, 张少平, 练冬梅, 等. 黄秋葵花和果荚转录组测序及类黄酮代谢差异表达分析 [J]. 西北植物学报, 2018, 38(11): 2000-2009. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2018.11.2000.
- [25] WANG S W, FANG Y J, YU X F, et al. The flavonoid-rich fraction from rhizomes of *Smilax glabra* Roxb. ameliorates renal oxidative stress and inflammation in uric acid nephropathy rats through promoting uric acid excretion[J]. Biomed Pharmac, 2019, 111: 162-168. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.050.
- [26] PETRUSSA E, BRAIDOT E, ZANCANI M, et al. Plant flavonoids: Biosynthesis, transport and involvement in stress responses [J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(7): 14950-14973. doi: 10.3390/ijms140714950.
- [27] DESHMUKH A B, DATIR S S, BHONDE Y, et al. *De novo* root transcriptome of a medicinally important rare tree *Oroxylum indicum* for characterization of the flavonoid biosynthesis pathway [J]. Phytochemistry, 2018, 156: 201-213. doi: 10.1016/j.phytochem.2018.09.013.
- [28] MIERZIAK J, KOSTYN K, KULMA A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment [J]. Molecules, 2014, 19(10): 16240-16265. doi: 10.3390/molecules191016240.
- [29] LLOYD A, BROCKMAN A, AGUIRRE L, et al. Advances in the MYB- bHLH-WD repeat (MBW) pigment regulatory model: Addition of a WRKY factor and co-option of an anthocyanin MYB for betalain regulation [J]. Plant Cell Physiol, 2017, 58(9): 1431-1441. doi: 10.1093/pcp/pcx075.
- [30] ZHANG S P, ZHANG S H, QIU S L, et al. The *Gynura bicolor* transcriptome as a source for anthocyanidin gene sequence analysis [J]. J Nucl Agric Sci, 2018, 32(4): 639-645. doi: 10.11869/j.issn.100-8551.2018.04.0639.
- 张少平, 张少华, 邱珊莲, 等. 基于转录组测序的紫背天葵花青素相关基因分析 [J]. 核农学报, 2018, 32(4): 639-645. doi: 10.11869/j.issn.100-8551.2018.04.0639.