

分类号：S663.1

单位代码：10363

密 级：公开

学 号：2220520120

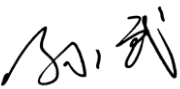
夜间补光处理对葡萄花色苷的影响及其转录组学研究
EFFECT OF NIGHTTIME SUPPLEMENTAL LIGHT
TREATMENT ON GRAPE ANTHOCYANIN AND
ITS TRANSCRIPTOMIC STUDY

学生姓名：	孙武
校内导师：	张国强（教授）
校外导师：	刘仕妹
专 业：	生物与医药
研究方向：	食品工程

论文答辩日期：2025 年 5 月 15 日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者签名：

日期：2025 年 04 月 20 日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在 _____ 年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☒。

学位论文作者签名：孙武

指导教师签名：张明

日期：2025 年 04 月 20 日

日期：2025 年 04 月 20 日

夜间补光处理对葡萄花色苷的影响及其转录组学研究

摘 要

葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 作为在全球被广泛种植的果树, 深受广大民群青睐。巨峰葡萄果皮呈紫色较厚, 果肉软甜多汁, 富含多种膳食纤维、氨基酸以及微量矿物质元素等多种营养活性物质。LED 补光处理能调控葡萄果实功能成分和品质, 然而在夜间延时补光处理能否有效调控葡萄花色苷含量等功能成分及其品质还鲜有报道。因此本实验通过对在转色期的巨峰葡萄进行夜间延时补光处理, 以设施内夜间不补光处理作为对照, 筛选出最优光源和最优补光时长。并通过转录组学分析揭示了花色苷富集的分子机制。结果如下:

1. 采用 3 种 LED 光源 (白光、红光、蓝光) 对在转色期的巨峰葡萄进行夜间延时补光处理, 以设施内夜间不补光处理作为对照, 发现与对照组相比, 3 种补光处理均能显著提高葡萄花色苷的含量, 加快褪黑素的降解, 对果实重量和纵横径的影响不显著。蓝光能显著提高花色苷、可溶性固形物、还原糖、GABA、总多酚含量以及抗氧化能力, 降低可滴定酸, 白光次之; 可溶性固形物与还原糖 ($P < 0.01$)、花色苷、Asp 显著正相关; 花色苷与 Asp ($P < 0.01$)、Phe、Leu、His 显著正相关。3 种光质均能显著提高 Asp、Thr、Met、Ile 和 Phe 的含量。此外, 蓝光显著提高 Ala、Cys、Val、Lys、His、Arg 和 Pro 的含量。因此, 本研究认为蓝光对葡萄果实的调控效果最好。

2. 夜间补充蓝光 3h、6h、9h 和 12h 对葡萄进行处理，以夜间不进行补光处理作为对照。与对照组相比，夜间不同蓝光时长的补光处理对葡萄果实的重量和纵横径以及 ABTS 自由基清除能力的影响不显著；但能显著提高葡萄果实的可溶性固形物、还原糖、花色苷、总多酚、总黄酮、GABA 和游离氨基酸等功能成分以及 DPPH 自由基清除能力；显著降低 pH 值、总酸和褪黑素含量。其中蓝光 9h 对可溶性固形物、还原糖、氨基酸、花色苷、总多酚、总黄酮、以及 DPPH 自由基清除能力的效果最优，蓝光 6h 次之。因此，本研究认为蓝光 9h 对葡萄果实的调控效果最好。

3. 采用 RNA-seq 数据分析，并通过 Q-PCR 验证了 RNA-seq 结果具有可靠性。在夜间补光处理下，花青素合成途径中的关键基因 PAL、CHS、DFR、GT、CFIP、VIT_14s0068g00920、VIT_06s0009g02860、VIT_06s0004g08150 等基因显著上调，使苯丙酮生物合成、类黄酮、黄酮和黄酮醇生物合成、花青素生物合成途径等通路显著富集，促进花色苷的积累。蓝光能使 PAL、CFIP、DFR 等基因显著表达，在葡萄果皮花色苷富集方面，这可能是蓝光比白光的效果更好的原因之一。不同时长蓝光处理使糖苷转移酶(GT)、过氧化物酶、基因(VIT_09s0018g01190 和 VIT_11s0037g00570)表达显著。此外，发现了大量的转录因子(如：bHLH、MYB、ERF、WRKY、C2H2、MYB-related 和 NAC 等)参与光调控下花色苷的合成。这些结果为夜间补光调控葡萄花色苷的积累提供新的认识。

关键词：不同光质；补光时长；葡萄；花色苷；转录组学

EFFECT OF NIGHTTIME SUPPLEMENTAL LIGHT TREATMENT ON GRAPE ANTHOCYANIN AND ITS TRANSCRIPTOMIC STUDY

ABSTRACT

Grapes (*Vitis vinifera* L.) as a fruit tree are widely planted in the world, favored by the majority of people. The skin of the *Vitis vinifera* L. grape berry is purple and thick, and the flesh is soft, sweet and juicy, which is rich in dietary fiber, amino acids, trace minerals and other nutrients, etc. The LED supplemental light treatment can regulate the functional components and quality of grape berries, however, there are few reports on whether the nighttime delayed supplemental light treatment can effectively regulate the content of grape berries' anthocyanosides and other functional components and their quality. Therefore, in this experiment, we screened out the optimal light source and the optimal duration of supplemental light by applying delayed nighttime supplemental light treatment to the Giant Peak grapes during the color transition period and using the no-nighttime supplemental light treatment in the facility as the control. The molecular mechanism of anthocyanin enrichment was also revealed by transcriptomics analysis. The results were as follows:

1. Using three kinds of LED light sources (white light, red light, and blue light) on the giant peak grapes in the color change period of the night delayed supplemental light treatment, compared to the facilities of the night without supplemental light treatment as a control, found that compared with the control group, the three kinds of supplemental light treatment can significantly improve the content of the anthocyanin and accelerate the degradation of melatonin; the effect on the weight of the fruit and the longitudinal and transverse diameter of the fruit is not significant. Blue light significantly increased the content of anthocyanosides, soluble solids, reducing sugars, GABA, total polyphenols, and antioxidant capacity, and decreased titratable acid, followed by white light; soluble solids were significantly and positively correlated with reducing sugars ($P<0.01$), anthocyanosides, and Asp; and anthocyanosides were significantly and positively correlated with Asp ($P<0.01$), Phe, Leu, and His. All three light qualities significantly increased the content of Asp, Thr, Met, Ile and Phe. In addition, blue light significantly increased the levels of Ala, Cys, Val, Lys, His, Arg and Pro. Therefore, the present study concluded that blue light had the best regulatory effect on grape berries.

2. Grapes were treated with supplemental blue light for 3 hours, 6 hours, 9 hours and 12 hours at night, with no supplemental light treatment at night as a control. Compared with the control group, the effects of nighttime supplemental light treatments with different hours of blue light

on the weight and longitudinal and transverse diameters of grape berries, as well as ABTS free radical scavenging capacity, were not significant; however, they could significantly increase the functional components of grape berries, such as soluble solids, reducing sugars, anthocyanosides, total polyphenols, total flavonoids, GABA, and free amino acids, as well as the scavenging capacity of DPPH free radicals, and they could significantly reduce the pH value, total acid, and melatonin content. The effect of blue light for 9 hours on soluble solids, reducing sugars, amino acids, anthocyanins, total polyphenols, total flavonoids, and DPPH radical scavenging capacity was optimal, followed by blue light for 6 hours. Therefore, this study concluded that 9 hours had the best regulatory effect on grape berries.

3. The RNA-seq data were analyzed by RNA-seq and the reliability of the RNA-seq results was verified by Q-PCR. Under nighttime supplemental light treatment, the key genes in the anthocyanin synthesis pathway, PAL, CHS, DFR, GT, CFIP, VIT_14s0068g00920, VIT_06s0009g02860, and VIT_06s0004g08150, were significantly up-regulated, which resulted in the significant up-regulation of phenylpropanoid biosynthesis, flavonoid, flavonoid, and flavanol biosynthesis, anthocyanin biosynthesis pathway and other pathways were significantly enriched, promoting the accumulation of anthocyanins. Blue light can make PAL, CFIP, DFR and other genes significantly expressed

in grape peel anthocyanin enrichment, which may be one of the reasons why blue light is more effective than white light. Different duration of blue light treatments resulted in significant expression of glycosidyltransferase (GT), peroxidase, and genes (VIT_09s0018g01190 and VIT_11s0037g00570). In addition, a large number of transcription factors (e.g., bHLH, MYB, ERF, WRKY, C2H2, MYB-related, and NAC) were found to be involved in light-regulated anthocyanin synthesis. These results provide new insights into the regulation of anthocyanin accumulation in grapevine by nighttime supplemental light.

KEY WORDS: different light qualities; duration of supplemental light; grape; anthocyanin; transcriptomics

目录

摘 要	III
ABSTRACT	V
第 1 章 绪论	1
1.1 葡萄简介	1
1.2 花色苷的研究进展	2
1.2.1 花色苷	2
1.2.2 花色苷的生物合成途径	2
1.2.3 花色苷的研究现状	3
1.3 补光处理对植物的影响	4
1.3.1 补光处理对植物生长的影响	4
1.3.2 补光处理对花色苷的影响	4
1.4 转录组学的研究进展	5
1.4.1 转录组学概述	5
1.4.2 转录组学在植物领域的应用	6
1.4.3 转录组学在花色苷中的应用	6
1.5 本研究的内容及目的意义	7
1.5.1 本研究的内容	7
1.5.2 本研究的目的意义	8
第 2 章 夜间不同光质处理对葡萄花色苷含量和果实品质的影响	9
2.1 引言	9
2.2 材料与方法	10
2.2.1 实验地点与材料	10
2.2.2 实验试剂	10
2.2.3 实验器材	10
2.2.4 实验方法	11
2.3 数据处理	13

2.4 结果与分析	13
2.4.1 不同光质对巨峰葡萄花色苷含量的影响	13
2.4.2 不同光质对巨峰葡萄果实品质的影响	14
2.4.3 不同光质对巨峰葡萄游离氨基酸含量的影响	16
2.4.4 不同光质对巨峰葡萄 GABA 含量的影响	19
2.4.5 不同光质对巨峰葡萄总多酚、总黄酮含量的影响	20
2.4.6 不同光质对巨峰葡萄褪黑素含量的影响	21
2.4.7 不同光质对巨峰葡萄抗氧化能力的影响	22
2.4.8 巨峰葡萄果实中功能活性物质及抗氧化能力相关性分析	23
2.5 本章小结	24
第 3 章 夜间蓝光不同照射时长处理对葡萄花色苷含量和果实品质的影响	26
3.1 引言	26
3.2 材料与方法	27
3.2.1 实验地点与材料	27
3.2.2 实验试剂	27
3.2.3 实验器材	27
3.2.4 实验方法	27
3.3 数据处理	28
3.4 结果与分析	28
3.4.1 不同时长蓝光对巨峰葡萄花色苷含量的影响	28
3.4.2 不同时长蓝光对巨峰葡萄果实品质的影响	29
3.4.3 不同时长蓝光对巨峰葡萄游离氨基酸含量的影响	29
3.4.4 不同时长蓝光对巨峰葡萄总多酚及总黄酮含量的影响	38
3.4.5 不同时长蓝光对巨峰葡萄褪黑素含量的影响	38
3.4.6 不同时长蓝光对巨峰葡萄 GABA 含量的影响	39
3.4.7 不同时长蓝光对巨峰葡萄抗氧化能力的影响	40
3.4 讨论	40
3.5 结论	42

第 4 章 转录组学分析揭示补光处理诱导葡萄花色苷生物合成的机制	43
4.1 前言	43
4.2 材料与仪器	44
4.2.1 实验样品	44
4.2.2 实验试剂	44
4.2.3 实验器材	44
4.3 实验方法	44
4.3.1 总 RNA 提取和 cDNA 文库构建	44
4.3.2 转录组测序和数据质量控制	45
4.3.3 差异表达基因 (DEG) 分析和功能注释	45
4.3.4 实时荧光定量 PCR 测定(qRT-PCR)	45
4.4 结果与分析	46
4.4.1 转录组数据分析和 DEGs 分析	46
4.4.2 GO 功能注释分析和 KEGG 通路富集分析	51
4.4.3 GSEA 富集分析	54
4.4.4 转录因子(TFs)分析	54
4.4.5 相关差异基因的 qRT-PCR 验证	55
4.5 讨论	56
4.5.1 苯丙酮生物合成与苯丙氨酸代谢	56
4.5.2 类黄酮、黄酮和黄酮醇的生物合成	57
4.5.3 花色苷的生物合成	58
4.5.4 调控花色苷积累的 TFs	60
4.6 结论	61
第 5 章 结论与展望	62
5.1 结论	62
5.2 创新点	63
5.3 展望	63
参考文献	64

攻读学位期间发表的学术论文	80
致谢	81

第 1 章 绪论

1.1 葡萄简介

葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 作为在全球被广泛种植的果树，具有悠久的种植历史，是世界上产量最高的水果之一，在鲜食水果界深受广大人民的喜欢^[1]。葡萄的年产量约为 7500 万吨，其中欧洲产量最大(约 41%)，其次是亚洲(29%)和美洲(21%)^[2]。2024 年中国的葡萄产量为 1420 万吨，已经成为全球最大的葡萄生产国^[4]。葡萄品种多样，约 8000 多种，在生产应用上主要分为鲜食葡萄和酿酒葡萄^[2]。葡萄作为新鲜水果食用，在食品工业生产中具有多种应用，如：葡萄酒、葡萄汁、葡萄酱和葡萄干等产品已经拥有成熟的生产销售流水线^[5]。葡萄与葡萄副产品等相关产业是很多农户发家致富的重要产业，在产业增收和乡村振兴方面具有显著成效。巨峰葡萄 (Kyoho) 原产于日本，在我国栽培时间较长，其栽培模式有露地栽培和设施栽培^[6]。巨峰葡萄具有抗病、抗寒、抗逆等特点，自身适应性强，果皮成紫色较厚，果肉软甜多汁，富含花色苷、原花青素、白藜芦醇、多酚、黄酮、褪黑素、氨基酸、膳食纤维和微量矿物质等多种功能活性成分^[7]。由于葡萄具有多种生物活性，使其对人体具有重要的健康营养价值。葡萄能保护人体免受自由基的侵扰，具有氧自由基吸收能力，提高人体的抗氧化能力^[8]。在抗炎方面，能显著抑制人肿瘤坏死因子 (TNF) 介导的炎症，缓解相关的关节炎症状^[9]。在调节肠道微生物菌群方面，葡萄能通过提高厚壁菌门与拟杆菌门的比例，有效调控了肠道菌群的失调^[10]。葡萄还能通过调节肠道菌群使其在抗肥胖、心脏保护、保肝活性、抗糖尿病和抗癌等方面具有重要作用^[11]。此外，葡萄及其生物活性化合物还在神经保护和抗衰老活性调节方面具有关键作用^[12]。因此，葡萄不仅在鲜食水果界占据重要地位，还在生物医药领域和食品营养健康方面具有巨大的发展潜力和研究价值。目前，人们对有机鲜食葡萄的需求迅速增加，主要是由于消费者认为有机食品具有更高的感官和营养品质^[13]。现如今随着人们对鲜食食品健康意识的增强，使其相应的高品质鲜食葡萄及其副产品产业和市场需求将进一步持续扩大，以满足人们对高质量鲜食食品的需要。

1.2 花色苷的研究进展

1.2.1 花色苷

花色苷一词是在 1835 年由 Marguart 在蓝色矢车菊提取物中首次被描述提出, 这种类型的化合物的特点是具有 3,5,7-三羟基-2-苯基苯并吡喃(C6-C3-C6)的基本结构^[14]。花色苷是植物的主要呈色物质, 属于类黄酮化合物, 是一类广泛存在于大多数陆生植物中的水溶性色素, 花色苷的积累使植物呈现红色、蓝色和黑色等各种颜色^[15]。目前自然界中已经确定了 700 多种不同结构的花色苷^[14]。花色苷主要存在于植物不同的器官中, 例如植物的果实、花、茎、叶和根中, 并且通常均匀地溶解在表皮细胞的液泡中。花色苷结构不稳定, 在自然条件下游离的花青素极少见, 主要以糖苷形式存在, 常与单糖(葡萄糖、半乳糖、鼠李糖等)或双糖(芸香糖、接骨木二糖、槐二糖等)和三糖等结合成花色苷。高等植物中最常见的花青素是: 飞燕草素、花青素、矮牵牛素、天竺葵素、牡丹素和锦葵素。大多数水果中分布最广的花色苷是矢车菊色素-3-葡萄糖苷^[16]。人们对花色苷的兴趣远远超出了它们在视觉上吸引人的颜色, 它们公认的结构和生物学特性推动了对它们在不同环境中应用的深入研究^[17]。

1.2.2 花色苷的生物合成途径

花色苷的生物合成主要分为三个阶段, 第一阶段是苯丙酮的生物合成, 这一阶段主要是以苯丙氨酸为起始物质, 通过苯丙氨酸解氨酶的催化形成肉桂酸, 再经反式肉桂酸 4-单加氧酶作用形成对香豆酸, 最后通过 4-香豆酸--CoA 连接酶合成对香豆酰辅酶 A; 第二阶段为类黄酮的生物合成途径, 这一阶段主要是将对香豆酰辅酶 A 在查尔酮合成酶的作用下生成柚皮素查尔酮, 再通过查尔酮异构酶生成柚皮素, 再经过柚皮素 3-二氧合酶、类黄酮 3',5'-羟化酶、二氢黄酮醇还原酶等酶的催化下形成无色花青素; 第三阶段为花青素生物合成途径, 这一阶段主要是将无色花青素在花青素合成酶的作用下生成单体花青素, 单体花青素再通过花青素 5,3-O-葡萄糖基转移酶、花青素 3-O-葡萄糖苷 5-O-葡萄糖基转移酶、花青素 3-O-葡萄糖苷 6'-O-酰基转移酶和花青素 3-O-葡萄糖基转移酶等糖基转移酶的催化下形成花色苷, 花色苷最终被转移至植物细胞的液泡中储存^[18]。

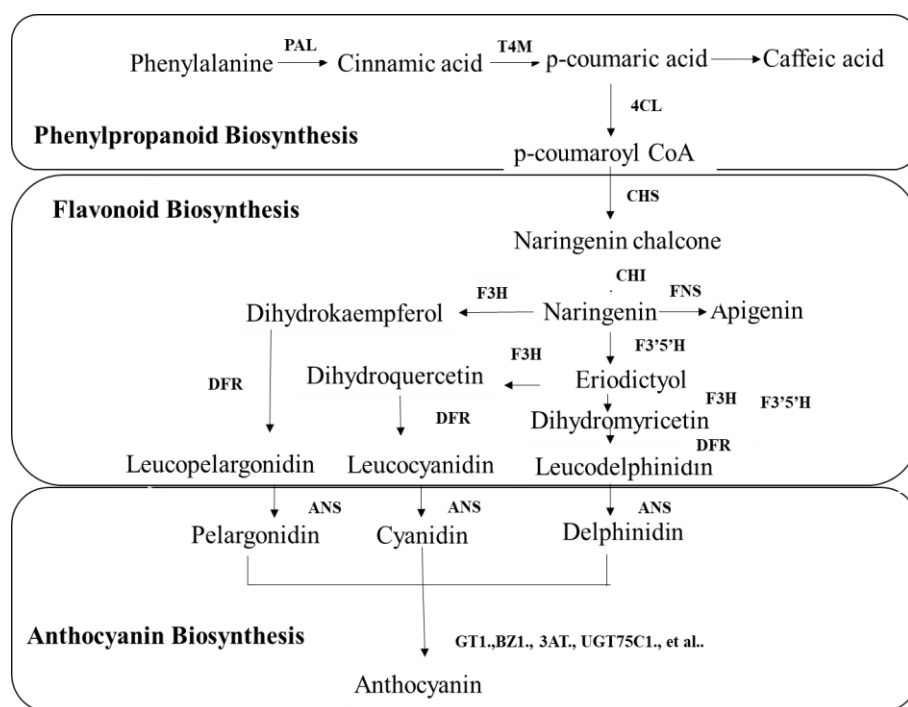


图 1-1 花色苷的生物合成途径

Fig. 1-1 Biosynthetic pathway of anthocyanin

1.2.3 花色苷的研究现状

在鲜食水果领域，花色苷主要集中存在于红葡萄或紫葡萄的果皮中。根据有关报道，白葡萄品种中几乎不含花色苷^[19]。近十年来，关于花色苷的科学研究主要集中在其功效、稳定性保护、天然色素合成、分离纯化和富集上。大量的研究表明花青素具有抗氧化、抗脂质过氧化、抗炎、免疫调节、心血管疾病预防、癌症预防和缓解代谢综合征等功效^[20]。几乎所有用于医药和食品的天然花色苷都是从水果、蔬菜和谷物中分离出来的，由于消费者不断增长的健康需求，这导致对花色苷的纯度要求较高。因此，花色苷的绿色高效提取纯化是其在食品、医药和化妆品领域开发利用的重要前提。然而，花青素的稳定性差和生物利用度低限制了它们的应用^[21]。目前，利用载体递送的方式如蛋白质-花青素递送系统、多糖-花青素递送系统、脂质体-花青素递送系统、多乳液输送系统和复合输送系统等递送系统可以提高花青素的溶解速率和吸收速率，提高其生物利用度^[22]。在花色苷富集方面，植物中花色苷的积累受多种环境信号、内源激素的诱导和相关转录因子的调控^[23]。通过非生物胁迫等方式改变植物的生长环境从而使植物体内的花色苷显著积累^[24]。

1.3 补光处理对植物的影响

1.3.1 补光处理对植物生长的影响

植物的生长发育受环境的影响巨大，主要受光照、低温、干旱和盐度等方面的影响^[25]。光是诱导植物生长的一个特别重要的环境因子。使用节能的补充照明，导致光合作用产物运输到水果中时会加快果实生长发育的进程，提高植物体的叶面积、干重和产量^[26]。补充不同光质的光源能显著促进光合电子传递活性，提高光合效率，并在促进番茄幼苗的生长发育的同时减少了气孔关闭^[27]。Goo^[28]等通过 LED 对辣椒进行补光处理，发现其光合作用速率、糖含量和果实产量显著高于不补光处理组，通过提供足够的光照水平来促进形态和生理分化，能有效地提高辣椒产量。David^[29]等通过增加 LED 补充光的水平可以提高温室种植的非洲菊的开花速度，但不会影响花的大小和质量。在夜间通过补光处理，可以提高玫瑰花的芽长、花品质、光合速率以及叶绿素和类胡萝卜素含量^[30]。补充不同时长和光照强度的蓝光能影响黄瓜幼苗的生理特性，能显著提高其净光合速率，促进黄瓜的生长和产量^[31]。在 LED 补充照明下，草莓的果实直径、重量、可溶性固形物含量和酸度显著高于对照组，显著提高了净光合速率、茎粗、叶片数、草莓植株的叶长和叶宽，使其单株果实产量、可溶性固形物含量和糖酸比分别提高了 32%、21% 和 33%，显著提高果实产量和果实品质^[32]。以上的研究均表明补光处理对植物的生长发育和品质调控具有重要作用，并为植物内源性功能性成分的富集提供重要的理论基础和潜在的应用价值。

1.3.2 补光处理对花色苷的影响

花色苷的生物合成主要与光照、温度、湿度等环境因子有关，其中光照的影响作用最大，其在植物组织中的积累表现为依赖光或不依赖光的生物合成^[34]。Satitmunnaithum^[35]等通过夜间补充蓝光处理发现蓝光显著提高了花青素生物合成相关基因（HY5、bHLH、WDR、MYB、PAL、CHS、F3H、DFR、ANS、和 UFGT）的表达水平，促进了花青素的合成和积累。然而，对照和蓝光处理的果实的生长之间没有显著差异，不会影响果实的整体生长。短时间的紫外光照射不会对生菜光合作用活动产生负面影响，同时通过提高次生代谢物总酚、类黄酮、花青素、类胡萝卜素和抗坏血酸的水平，显著提高生菜的整体抗氧化潜力。相反，

长时间的紫外光照射诱导生菜花青素积累严重,但损害了其光合器官并限制了植物生长。这表明短期补充紫外光是对生菜功能活性成分进行富集的有效方法,而长时间的紫外光照射对生菜的品质、形态和感官特性等方面有负面影响^[36]。各种光质对紫菜生长、光合作用、抗氧化能力、花青素积累和相关基因表达的影响显著,且花青素含量随着紫外光处理剂量的增加而显著增加,适度补充紫外光可以增强紫菜的抗氧化系统并促进花青素的积累^[37]。有研究发现补充光照不会改变植物生物量的产生,但蓝光增加了植物中的多酚含量,而绿光可有效减少矢车菊素-3-香豆酚-葡萄糖苷,因此,单色 LED 补光是调节植物中目标次生代谢物积累的有效工具^[38]。混合 LED 光照射能对水菜的硫代葡萄糖苷和花青素都有积极影响^[39]。红蓝混合 LED 光处理能促进植物鲜重、干重、总可溶性糖、淀粉、花青素、叶绿素和类胡萝卜素、酚类化合物和各种矿物质的积累,提高植物的营养价值^[40]。在赤霞珠葡萄处于转色期后进行补充阳光能改善葡萄的成熟度,促进葡萄皮中总多酚、总单宁和总花色苷含量的积累^[41]。高压钠灯与 LED 灯照射相比,高压钠灯发出的光在促进总糖、总类胡萝卜素、含水量和株高等方面表现优于 LED 灯和 LED 混合红外光灯,而这三种灯光照射对番茄的总酚和总花色苷含量的影响并不显著,但能提高果实质量,促进番茄植株更快、更早地开花^[42]。因此,不同补光系统处理能否有效促进花色苷的积累还需要进一步研究,从而筛选出不同物种所最适的补光系统和方法。

1.4 转录组学的研究进展

1.4.1 转录组学概述

转录组学是功能基因组学的一个分支,已成为研究各种生物体基因表达模式的强大工具。它是一个动态基因组学领域,研究细胞中的整套 RNA 分子,称为转录组^[43]。转录组学技术最早可以追溯到 20 世纪 70 年代。1969 年,原位杂交技术被首次在可视化基因表达上应用。20 世纪 90 年代,虽然检测的灵敏度有限,但像 DNA 微阵列等基因芯片技术开始在大数据基因表达分析中被应用。1995 年,根据 Sanger 测序,通过标签测序技术使在基因表达分析中的转录组被定量,但测序通量较低。随着科学技术的发展,荧光原位杂交技术的分辨率和效率被显著提高,这促进了空间转录组学的发展。然而,高通量测序技术的时代随着 RNA-

seq 技术的出现发生了崛起, 采用二代测序可以实现全转录本的检测, 且灵敏度和准确性更高。2013 年后, RNA-seq 技术可以通过在单细胞水平上进行基因表达分析, 这标志着单细胞转录组时代的到来, 这种单细胞测序系统可实现高通量, 并且可以检测稀有细胞类型。单细胞测序方法主要有以下三种: 基于板、基于组合标定和基于磁珠的测序方法^[44]。目前, 转录组已经成为人们应用最广泛的组学技术之一, 在揭示基因表达的动态模式以及时间和空间调控机制方面具有深远影响^[43]。

1.4.2 转录组学在植物领域的应用

转录组学被广泛用于研究植物对各种胁迫的响应^[45]。转录组学研究揭示了在暴露于极端环境期间各种基因表达水平的许多变化, 就盐胁迫而言, 植物的转录组学分析有助于识别重要的转录本和各种生理过程之间的联系^[46]。比较转录组学揭示了番茄中基因表达水平的变化, 其中许多是由选择压力的变化引起的^[47]。这些基因中的大多数都是应激响应性的, 并参与赋予压力耐受性。在野生和栽培番茄物种中, 对光的反应出现了大规模的修饰^[47]。对于棉花的转录组学研究发现相关基因的表达受纤维发育、光和氯化钠的调节^[48]。转录组学成功地鉴定了参与葡萄藤营养和生殖生长的基因, 特别是植物对生物和非生物胁迫因子的反应^[49]。此外, 转录组还分析揭示了组织间和不同营养阶段基因表达的定量差异, 可以获得有关参与有机酸、单宁和其他次生代谢物合成的基因的重要信息^[50]。转录组测序发现在转色期内, 花青素开始在有色品种的浆果皮中积累; 以及整个成熟过程中浆果发育和信号传导的激素调节, 侧重于激素受体、蛋白激酶和与次级信使感应相关的基因的转录调节, 同时揭示了葡萄浆果对非生物(温度、与水相关的压力和 UV-B 辐射)和生物(真菌和病毒)胁迫等不同环境因素的反应及其对葡萄果实的发育和组成的影响^[51]。到目前为止, 尽管转录组学在不同分子水平上的应用已经取得了巨大进展, 但这些技术的潜力不应局限于研究单层次问题, 应该整合测序数据, 以揭示植物发育的详细机制。

1.4.3 转录组学在花色苷中的应用

花色苷的生物合成和代谢受众多基因和转录因子的调控, 转录组学能在基因分子水平上去分析花色苷生物合成与分解的分子机制。Blsa^[52]等人采用转录组学技术对“红地球”葡萄进行了分析发现 HY5、UVR8、PHY、CRY 和 COL 等一

系列候选基因可能在葡萄对光信号的响应和传递中发挥重要作用,并筛选出可能参与光诱导葡萄花色苷积累调控的多个转录因子基因。Fu^[53]等通过转录组测序发现在低温条件下,查尔酮合酶基因显著表达,并激活促进花色苷的生物合成,并通过花色苷的积累来提高植物的耐寒性。Li^[54]等采用转录组测序分析了不同颜色的芦笋品种,发现有数千个基因在苯丙氨酸代谢、苯丙烷类生物合成和类黄酮生物合成等与花色苷积累相关的途径中富集,并发现转录因子 MYB114 能正向调节花青素的生物合成。Zhang^[55]通过 RNA-seq 发现红橙果肉中花色苷的积累与 DNA 甲基化有关。为了分析低温弱光对茄子各部位花青素含量的影响,采用转录测序分析发现苯丙烷生物合成、类黄酮生物合成和花青素生物合成 3 种途径参与了茄子花青素的生物合成,茄子果皮中花青素含量与 PAL、4CL、CYP73A100、CHS、CHI、F3H、DFR、ANS、3GT 等基因显著相关,与 MYB、bHLH 和 AP2/ERF 等转录因子也具有相关性^[56]。Sun^[57]等采用转录组分析发现 LED 蓝光处理增强了花青素合成相关基因(如 CHS)的表达,促进了小麦花青素的积累。这些发现为光照质量如何影响作物生长和发育提供了有价值的见解。总之,通过转录组学去分析揭示花色苷的生物合成机制已经在植物众多场景中进行了应用,然而,对于夜间延时补光能提高葡萄花色苷含量的组学研究还鲜有报道。因此,通过转录组学分析揭示夜间补光处理对葡萄花色苷含量富集机制在葡萄分子育种、品质改良和标准化种植等方面具有重要意义,并为推动绿色食品产业的发展提供理论基础和现实依据。

1.5 本研究的内容及目的意义

1.5.1 本研究的内容

(1) 采用 3 种 LED 光源 (白光、红光、蓝光) 对在转色期的巨峰葡萄进行夜间延时补光处理,以设施内夜间不补光处理作为对照。评估 3 种 LED 光源对葡萄花色苷含量和其他功能成分的影响,并筛选出最优的 LED 光源。

(2) 将最优的 LED 光源分为不同的补光时长 (3h、6h、9h 和 12h) 对葡萄进行处理,以夜间不进行补光处理作为对照。评估 4 个补光时长对葡萄花色苷含量和其他功能成分的影响,并筛选出最优的 LED 补光时长。

(3) 通过转录组学分析不同光质和不同补光时长处理的葡萄样品，在分子的水平上找到不同光质和不同补光时长处理富集葡萄样品中花色苷相关的基因，初步揭示不同光质和不同补光时长诱导葡萄花色苷富集的分子机制。

1.5.2 本研究的目的意义

葡萄具有很高的营养价值，是人们普遍食用的水果之一。近年来随着葡萄副产品行业(如：葡萄干果，葡萄酒，葡萄饮料等)的飞速发展，葡萄消费量迅速增长。又随着人们对绿色食品意识的增强，对葡萄的品质要求越来越高。

花色苷具有抗氧化、抗衰老、保护视力、抑制炎症、预防慢性心脑血管疾病等多种功效。通过补光处理，能显著提高葡萄花色苷的水平和果实品质，然而，对于在夜间通过不同光质和不同时间的补光处理能提高葡萄花色苷含量的组学研究还鲜有报道。因此本文通过对在转色期的巨峰葡萄进行夜间延时补光处理，以设施内夜间不补光处理作为对照，筛选出最优光源和最优补光时长。并通过转录组学分析揭示了花色苷富集的分子机制。这为葡萄的标准化种植、品质改良、分子育种以及开发富含高花色苷的功能性食品具有重要意义，为推动绿色食品农业的发展提供了重要线索和理论基础。

第 2 章 夜间不同光质处理对葡萄花色苷含量和果实品质的影响

2.1 引言

葡萄作为在全球被广泛种植的果树，在鲜食水果界深受广大人民的喜欢。巨峰葡萄（Kyoho）原产于日本，在我国栽培时间较长，其栽培模式有露地栽培和设施栽培^[6]。巨峰葡萄具有抗病、抗寒、抗逆等特点，自身适应性强，果皮呈紫色较厚，果肉软甜多汁，富含多种膳食纤维、氨基酸以及微量矿物质元素等多种营养活性物质^[58]。花色苷是葡萄中最重要的功能活性成分之一，其对人类健康有众多益处，例如抗氧化、抗炎症、调节肠道微生物群、保护视力、预防心血管疾病^[59]。设施栽培的葡萄能遮蔽风雨，提高坐果率，保护葡萄浆果免受许多疾病的侵害，但葡萄是喜光植物，在树冠顶部添加薄膜等设施会影响葡萄光照。与露天栽培相比，设施大棚栽培会降低葡萄果实中花色苷等大多数酚类化合物的合成^[60]。光照不足会导致果实的成熟度和果皮颜色不一致，使葡萄果实品质和口感降低^[61]。随着人民对健康意识的提高，消费者对葡萄果实品质的要求愈演愈烈，采用人工补光的方法可以很好的解决这一问题^[6]。

近年来，LED 光源已经在植物的生长、发育和代谢调控等方面被广泛应用。郑晓翠等^[63]通过不同光质补光处理对桃果子的品质的影响进行了探究，发现补充蓝光能使桃果子的重量、可溶性固形物、可溶性糖、果实酚类含量升高，酸度降低。光是参与花色苷生物合成途径的信号调节因素之一，不同光照强度对葡萄果皮花青素的合成有显著影响^[64]。蓝光和复合 LED 光照可提高叶片光合能力，改善果实组成，而红色和复合 LED 光照可增加葡萄浆果质量以及纵径和横径^[65]。蓝光和白光对葡萄可溶性固形物的含量的升高有促进作用^[62]。低功率紫外灯照射使葡萄中的类胡萝卜素等物质显著增加^[66]。

目前，夜间延时补光的方法已经在番茄、黄瓜、草莓、葡萄等的幼苗或幼果上进行了研究，发现能促进其幼苗的生长发育和幼果的果实品质^[67]。有研究表明，夜间补充蓝光和红光能增加花青素和糖浓度，红光能提高葡萄果皮脱落酸的含量

[69]。葡萄在转色期间通过不同光质在夜间延时补光处理对果实品质，特别是对花色苷及氨基酸等相关功能成分的影响研究还鲜有报道。因此，本研究选用设施栽培的巨峰葡萄为试验材料，通过夜间采用 LED 灯延时补光的方法对处于转色期的巨峰葡萄进行补光处理，评估了夜间不同光质补光对葡萄果实品质、花色苷含量、营养活性以及抗氧化能力的影响，为改善设施葡萄果实品质提供理论基础。

2.2 材料与方法

2.2.1 实验地点与材料

试验在安徽省芜湖市金色北岸生态农业有限公司葡萄园区设施栽培葡萄大棚进行(东经 118° 12'36"; 北纬 31 °27'14"), 此地区属于亚热带湿润季风气候, 年平均气温 16℃, 日照时数约 2000 小时, 降雨量 1200 mm, 无霜期约 245 天。大棚长 82 m, 脊高 10 m, 跨度 10 m。本次试验的葡萄品种是 2015 年栽种的巨峰葡萄, 以“V”型葡萄架式进行整形, 树龄 8 年, 栽植密度 2.8 m x 2.5 m, 东西行向。LED 补光灯由蓝鲨照明有限公司提供, 灯管长度 1.2 m。

2.2.2 实验试剂

氢氧化钠分析纯(NaOH)、碳酸钠(Na_2CO_3)、亚硝酸钠、六水氯化铝($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、盐酸、甲醇、氯化钾、乙酸钠、没食子酸标准品(纯度 $\geq 98\%$)、芦丁标准品(纯度 $\geq 98\%$)、3, 5-二硝基水杨酸和三氯乙酸, 国药化学试剂有限公司; 福林酚, 上海展云化工有限公司; ABTS, 阿拉丁生化科技股份有限公司; DPPH, 上海麦克林生化科技有限公司; PLANT MT ELISA KIT、PLANT GABA ELISA KIT 上海桥杜生物科技有限公司。

2.2.3 实验器材

表 2-1 实验设备

Table 2-1 Experimental equipment

设备名称	型号	生产厂家
电子天平	LY1002	上海精密科学仪器有限公司
真空冷冻干燥机	LGJ-12	北京松源华兴科技有限公司
超微粉碎机	ST-5280	瑞安市赛特机电有限公司
台式高速冷冻型微量离心机	D3024R	北京大龙兴创实验仪器有限公司
酶标仪	1510	上海赛默飞世尔仪器有限公司
紫外可见分光光度计	UV-5200	上海元析仪器有限公司
糖度计	PAL-1	日本 ATAGO 公司
游标卡尺	PS810	德国帕司特集团有限公司
氨基酸分析仪	LA8080	日本 HITACHI 公司
低温冷冻柜	DW-60W151EU1	青岛海尔特种电冰柜有限公司

2.2.4 实验方法

2.2.4.1 实验补光处理

试验于葡萄转色期(2023 年 6 月 27 日)开始补光,至葡萄成熟时(2023 年 8 月 14 日)补光终止。每天夜间(白、红、蓝光)连续补光 6 h(20:00-次日 2:00),蓝光和红光波长分别为 450nm 和 650nm,将不进行 LED 灯照射作为对照;补光灯安装的位置距离葡萄约 30 cm,不同处理组间留有 1 株保护树,排除处理间的相互干扰。每种光源 3 个重复,分别在补光期每隔 5 天进行采样,每个处理采摘 30 颗葡萄,分别从 10 穗葡萄上采摘,每穗葡萄从上、中和下部各采 2 粒葡萄,采集的葡萄样品采用液氮速冻,放置-80℃冰箱保存。

2.2.4.2 样品提取液制备

根据刘美迎^[70]的方法进行略微修改,将冷冻样品破碎后使用真空冷冻干燥机 (LGJ-10)避光冻干 72 h,冻干样本研磨至粉末状。称取 1g 葡萄干粉于 10ml 棕色离心管中,加入 6 ml 0.1%盐酸甲醇溶液,超声提取(20 °C, 20 min),避光浸提 24h (4 °C);离心(4 °C, 8000 r x 20 min)收集上清液即为样品提取液。

2.2.4.3 花色苷含量测定

采用 pH 示差法测定花色苷含量^[70]。将样品提取液分别加入 KCl 缓冲液 (PH=1)和 NaAC 缓冲液(PH=4.5),分别在 530 nm 和 700 nm 处测量其吸光度。

2.2.4.4 总多酚含量测定

总酚含量的测定参考 Patricia 等^[71]的方法进行修改。取 25 μ L 样品提取液与 125 μ L 10%福林酚试剂于 96 孔板中,静置 10 分钟,加入 125 μ L 7.5%Na₂CO₃ 溶液,避光反应 30 min,于 765 nm 处测定其吸光度。结果以没食子酸绘制标准曲线表示。

2.2.4.5 总黄酮含量测定

总黄酮含量的测定参考 PEINADO 等^[72]的方法进行修改。取 50 μ L 样品提取液于 96 孔板中,加入 20 μ L 0.5 mol•L⁻¹ NaNO₂,静置 5min,再加入 20 μ L 0.3mol•L⁻¹ AlCl₃,静置 6 min,再加入 200 μ L 0.5 mol•L⁻¹ NaOH 溶液,混匀后静置 15 min,在 510 nm 处测定其吸光度。结果以芦丁含量绘制标准曲线表示。

2.2.4.6 褪黑素含量的测定

褪黑素含量采用 ELISA 试剂盒测定,参照试剂盒 (PLANT MT)的说明书 (上海桥杜生物科技有限公司)进行操作,绘制标准曲线。

2.2.4.7 γ -氨基丁酸(GABA)含量的测定

GABA 含量采用 ELISA 试剂盒测定,参照试剂盒 (PLANT GABA)的说明书 (上海桥杜生物科技有限公司)进行操作,绘制标准曲线。

2.2.4.8 抗氧化能力测定

DPPH 自由基清除能力的测定参考 Herald 等^[73]的方法进行修改。取 30 μ L 样液于 96 孔板中, 加入 200 μ L DPPH 溶液, 混匀避光静置 30 min, 在 517 nm 处测定其吸光度。

ABTS 自由基清除能力的测定参考 Re 等^[74]的方法进行修改。取 20 μ L 样品提取液于 96 孔板中, 加入 200 μ L ABTS 溶液(溶液浓度在 734 nm 处吸光值为 0.7 ± 0.02), 混匀, 避光静置 30 min, 在 734 nm 处测量其吸光度。

2.3 数据处理

数据均以平均值 $\pm$ 标准误差表示。采用 IBM SPSS 25.0 软件进行数据分析, 使用软件 Origin 2021 绘图。所有数据均进行三次重复试验。

2.4 结果与分析

2.4.1 不同光质对巨峰葡萄花色苷含量的影响

不同光质对巨峰葡萄花色苷含量的变化如图 2-1 所示, 3 种光质能大大提高花色苷的含量。在成熟过程中, 花色苷含量从 0.13 mg/g 逐渐升高到 0.39 mg/g, 蓝光的处理效果最好, 最高时是对照的 2.55 倍; 在 95DAF 时, 白、红、蓝光处理的花色苷含量: 蓝光>红光>白光; 在 105DAF 时, 蓝光>白光>红光。

葡萄果实中酚类物质有花色苷和非花色苷两大类, 花色苷属于黄酮类化合物, 是葡萄果皮中最主要的多酚类物质之一。在葡萄果实成熟过程中, 光照能上调了 VvCHI、VvCHS、VvF3H2、VvDFR、VvLDOX、VvUFGT、VvMYBA1 等花色苷合成相关基因的表达水平, 促进了花色苷的合成^[70]。Naing 等^[75]人通过研究不同光质和光周期的影响, 发现补光能提高所有光诱导性植物中花青素的积累; 这与本文研究中, 蓝光显著提高花色苷含量的结论一致。

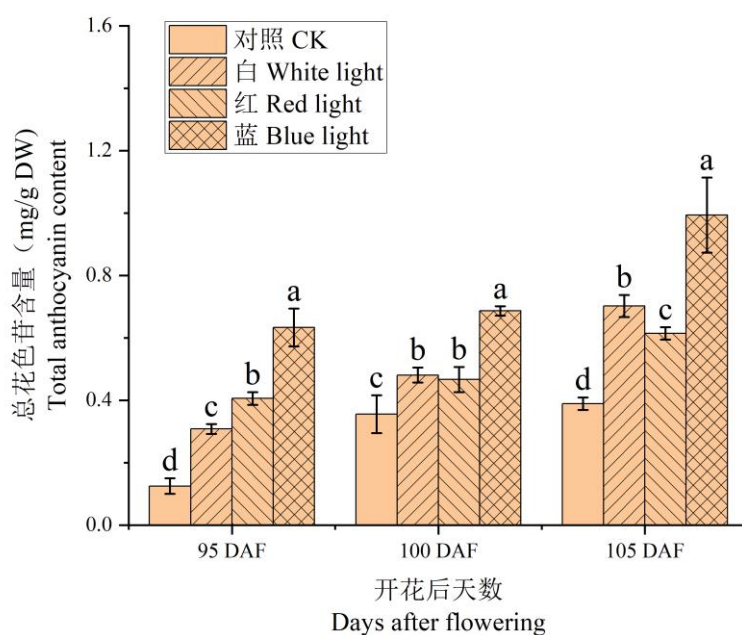


图 2-1 不同光质对巨峰葡萄花色苷含量的变化

注：图中不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平存在显著差异。下同。

Fig. 2.1 Changes in anthocyanin content of 'Kyoho' grapes with different light qualities

Note: The different lowercase letters in the graphs indicate significant differences between treatments at the 0.05 level. The same as below.

2.4.2 不同光质对巨峰葡萄果实品质的影响

由表 2-2 可见，在转色过程中，葡萄重量从 12.50 g 增长到 13.20 g。白、红、蓝光处理对葡萄果实的重量，大小的影响并无显著性差异。可溶性固形物和还原糖含量在转色过程中分别从 14.6 和 9.70 升高到 16.5 和 11.11，总酸度从 6.38 逐渐降低到 5.63。与对照相比，夜间白、红、蓝光处理对其含量的影响存在一定的差异；蓝光能显著提高可溶性固形物和还原糖含量。由图 2-2A 所示，补光处理在一定程度上提高了 pH 值，且蓝光的效果最好，白光次之；由图 2-2B 可知，蓝光显著降低葡萄果实的酸度且效果最好；红光在葡萄可溶性固形物及可滴定酸含量方面的影响并不显著。在 95DAF，葡萄果实中可溶性固形物表现为蓝光>白光>红光，还原糖含量表现为蓝光>红光>白光，总酸度表现为红光>白光>蓝

光；在 100DAF、105DAF，葡萄果实中还原糖含量表现为 蓝光>白光>红光，白光和红光对可溶性固形物以及可滴定酸含量的影响无显著差异。

表 2-2 不同光质对巨峰葡萄果实品质的变化

Table 2-2 Changes of different light quality on the fruit quality of 'Kyoho' grapes

参数	处理	对照	白光	红光	蓝光
可溶性固形物%	95 DAF	14.60 ± 0.07 ^c	15.35 ± 0.21 ^b	14.65 ± 0.14 ^{bc}	15.85 ± 0.21 ^a
	100 DAF	15.70 ± 0.07 ^b	16.45 ± 0.21 ^{ab}	16.30 ± 0.14 ^b	16.65 ± 0.21 ^a
	105 DAF	16.50 ± 0.35 ^b	16.80 ± 0.57 ^b	16.70 ± 0.42 ^b	17.50 ± 0.21 ^a
还原糖%	95 DAF	9.70 ± 0.05 ^d	10.04 ± 0.14 ^c	10.56 ± 0.01 ^b	11.10 ± 0.27 ^a
	100 DAF	10.52 ± 0.01 ^d	11.30 ± 0.01 ^b	10.82 ± 0.03 ^c	11.43 ± 0.01 ^a
	105 DAF	11.11 ± 0.01 ^d	11.43 ± 0.01 ^b	11.31 ± 0.01 ^c	12.09 ± 0.02 ^a
单果重(g)	95 DAF	12.50 ± 0.80 ^a	10.80 ± 1.60 ^a	11.00 ± 1.00 ^a	12.30 ± 0.40 ^a
	100 DAF	12.90 ± 1.56 ^a	11.13 ± 1.15 ^a	11.90 ± 1.31 ^a	12.35 ± 1.15 ^a
	105 DAF	13.20 ± 1.15 ^a	12.93 ± 1.05 ^a	12.20 ± 1.56 ^a	12.50 ± 0.87 ^a
纵径(mm)	95 DAF	27.96 ± 0.56 ^a	27.26 ± 0.98 ^a	26.12 ± 1.40 ^a	27.69 ± 0.49 ^a
	100 DAF	28.00 ± 1.60 ^a	27.48 ± 1.12 ^a	26.30 ± 0.81 ^a	28.12 ± 1.46 ^a
	105 DAF	28.54 ± 1.05 ^a	28.18 ± 1.21 ^a	27.89 ± 1.47 ^a	28.44 ± 1.53 ^a
横径(mm)	95 DAF	26.99 ± 1.63 ^a	26.22 ± 0.86 ^a	26.40 ± 0.53 ^a	27.32 ± 1.14 ^a
	100 DAF	27.42 ± 0.99 ^a	27.18 ± 0.97 ^a	26.92 ± 1.42 ^a	27.38 ± 0.87 ^a
	105 DAF	28.27 ± 0.94 ^a	27.71 ± 1.29 ^a	27.17 ± 1.44 ^a	27.41 ± 0.93 ^a

注：表中不同小写字母表示不同处理间存在显著差异（P<0.05,下同）

葡萄是典型的喜光植物，对光质、光强和温度等环境因素具有极大的要求。不同光质对葡萄果实的生长发育及其品质起着重要调控作用^[76]。采用夜间人工补光的方式可以显著提高葡萄果实的品质。有研究发现，经过蓝光处置能使桃果实的重量、可溶性固形物、可溶性糖、果实酚类含量升高，酸度降低^[63]。红光能提高巨峰葡萄果实的果粒重、纵径和横径，白光和蓝光可以提高葡萄糖度^[62]；蓝光不仅在葡萄果实发育过程中使其质量和纵径横径增大、果实糖含量的升高以及

酸度的下降等方面有显著作用，还能使葡萄果实更早成熟，发育得更好^[77]。我们的研究发现，蓝光在巨峰葡萄果实的质量和纵径横径方面有增大的作用，但差异并不显著；蓝光在提高果实还原糖含量和糖度，降低葡萄果实酸度方面有显著作用，这与张克坤等^[77]研究的结果一致。这可能是由于蓝光显著促进了果实成熟的进程，使葡萄果实内源激素产生动态变动，使酸性转化酶和中性转化酶的活性降低，并激活糖合成酶基因的正向表达，使蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶等相关酶活性升高，导致其果实糖分的积累^[78]。

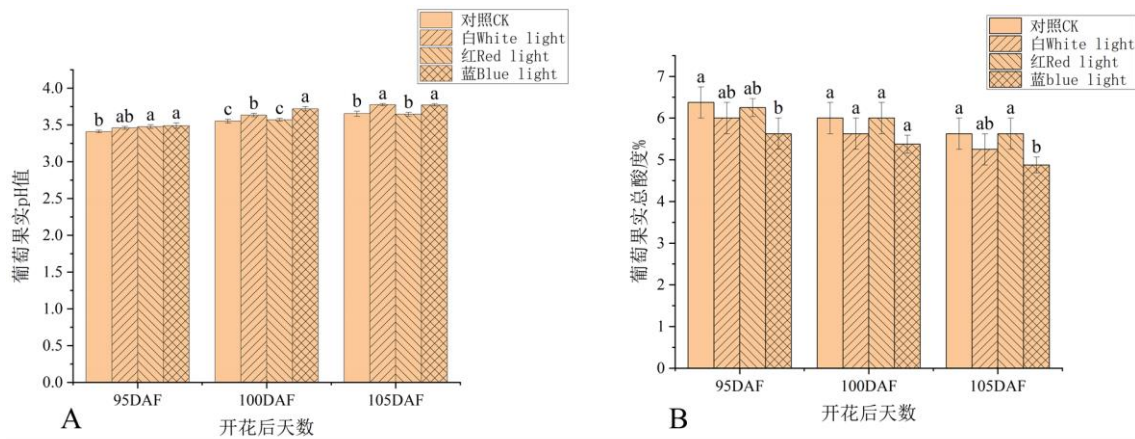


图 2-2 不同光质对巨峰葡萄 pH 值和总酸度的变化

Fig. 2-2 Changes in pH and total acidity of Jumbo grapes with different light quality

2.4.3 不同光质对巨峰葡萄游离氨基酸含量的影响

在葡萄成熟过程中，其果实游离氨基酸的含量存在显著差异，Glu, Ala, Arg, Pro 是巨峰葡萄的主要氨基酸(表 2-3)。我们在巨峰葡萄中没有检测到 Tyr，成熟过程中 Asp、Gly、Ala、Val、Phe、Pro 的含量在逐渐升高，Thr、Ser、Met、Ile、Leu 的含量在逐渐降低，Glu、Cys、Lys、His、Arg 的含量处于动态平衡状态。葡萄在 95DAF 时，白光能显著提高 Thr、Glu、Gly 的含量，红光能显著提高 Asp、Cys、Pro 的含量，蓝光能显著提高 Asp、Glu、Gly、Cys、Val、Ile、Phe、Pro 的含量；补光处理使在 95DAF 的葡萄果实中 Ser、Met、Lys、Arg 的含量显著降低。在 100DAF 时，三种光质均能提高 Thr、Ser、Ala、Cys、Met、His、Arg 的含量，白光能提高 Glu、Gly、Phe、Lys 的含量，红光和蓝光均能使 Asp、Val、Ile 的含量升高，蓝光还能提高 Leu 的含量。在 105DAF 时，三种光质均能显著提高 Asp、Thr、Met、Ile、Phe 的含量，白光能显著提高 Glu、Leu、His 的含量，红光和蓝

光均能使 Ala、Cys、Val、Lys、His、Arg、Pro 的含量升高,有趣的是,红光在转色后期还能提高 Ser、Glu、Gly 的含量。在 95DAF 时,三种补光效果均未能提高葡萄果实游离氨基酸的总量。在 100 和 105DAF 时,三种光质处理均能提高其氨基酸的总量,100DAF 时,蓝光>白光>红光;105DAF 时,红光>蓝光>白光。

游离氨基酸是葡萄果实中的重要营养物质,不同光质对游离氨基酸含量有着显著影响,绿光和荧光能促进大量游离氨基酸的积累^[80]。陈华伟等^[81]发现蓝色提高了成熟葡萄中精氨酸、丙氨酸、丝氨酸和天冬氨酸等氨基酸的含量,白色显著提高了葡萄中的谷氨酸和天冬氨酸含量。这与本研究中蓝光和白光补光处理的结果一致,我们还发现蓝光对苯丙氨酸、组氨酸和缬氨酸等有显著促进作用,这是由于补光处理促进了光合作用,调节了相关氨基酸的代谢途径^[82]。

表 2-3 不同光质对巨峰葡萄氨基酸含量变化

Table 2-3 Changes in amino acid content of 'Kyoho' grapes in different light qualities

时间	氨基酸 (mg·L ⁻¹)	对照	白光	红光	蓝光
95 DAF	Asp	46.72 ± 0.62 ^c	52 ± 1.18 ^b	54.06 ± 0.9 ^a	51.12 ± 0.78 ^b
	Thr	269.96 ± 2.58 ^b	297.37 ± 5.47 ^a	252.3 ± 4.6 ^c	59.69 ± 4.35 ^d
	Ser	81.22 ± 0.75 ^a	67.51 ± 1.51 ^c	68.55 ± 1.59 ^c	76.81 ± 1.6 ^b
	Glu	152.89 ± 1.59 ^b	166.33 ± 3.86 ^a	122.64 ± 2.66 ^c	167.77 ± 2.79 ^a
	Gly	8.12 ± 0.06 ^c	9.44 ± 0.21 ^a	6.31 ± 0.24 ^d	8.67 ± 0.19 ^b
	Ala	425.3 ± 3.94 ^a	432.88 ± 6.95 ^a	342.3 ± 11.03 ^b	438.69 ± 7.62 ^a
	Cys	1.04 ± 0.06 ^c	0.86 ± 0.14 ^c	2.82 ± 0.16 ^b	3.48 ± 0.16 ^a
	Val	27.19 ± 0.27 ^b	23.52 ± 1.51 ^c	23.47 ± 1.49 ^c	30.78 ± 1.74 ^a
	Met	7.43 ± 0.05 ^a	6.53 ± 0.12 ^b	4.88 ± 0.12 ^d	6.03 ± 0.3 ^c
	Ile	5.72 ± 0.11 ^b	4.23 ± 0.22 ^c	4.27 ± 0.26 ^c	6.21 ± 0.21 ^a
	Leu	17.35 ± 1.67 ^a	11.75 ± 2.72 ^b	15.3 ± 2.93 ^a	16.78 ± 2.85 ^a
	Phe	20.35 ± 0.38 ^b	24.73 ± 1.18 ^a	16.38 ± 0.91 ^c	23.61 ± 1.25 ^a

时间	氨基酸 (mg•L ⁻¹)	对照	白光	红光	蓝光
100DAF	Lys	10.39 ± 0.17 ^a	8.66 ± 0.32 ^c	7.99 ± 0.30 ^d	9.71 ± 0.29 ^b
	His	31.14 ± 0.33 ^{ab}	25.57 ± 1.13 ^c	29.21 ± 1.13 ^b	31.49 ± 1.17 ^a
	Arg	712.48 ± 5.58 ^a	520.99 ± 10.71 ^d	637.98 ± 10.32 ^b	593.05 ± 7.43 ^c
	Pro	67.03 ± 0.85 ^d	110.42 ± 1.86 ^a	73.1 ± 1.96 ^c	93.64 ± 1.96 ^b
	总氨基酸	1884.30	1762.78	1661.55	1617.52
	Asp	52.22 ± 1.60 ^b	53.34 ± 1.47 ^b	62.59 ± 0.94 ^a	61.40 ± 0.76 ^a
	Thr	53.49 ± 5.60 ^d	328.71 ± 8.09 ^b	288.32 ± 7.83 ^c	393.09 ± 7.67 ^a
	Ser	61.71 ± 1.40 ^d	81.98 ± 1.71 ^c	88.3 ± 1.75 ^b	106.13 ± 2.06 ^a
	Glu	186.95 ± 1.94 ^b	194.38 ± 2.76 ^a	168.08 ± 2.70 ^c	188.48 ± 2.84 ^b
	Gly	11.39 ± 0.29 ^{bc}	12.84 ± 0.47 ^a	10.66 ± 0.45 ^c	12.06 ± 0.39 ^{ab}
	Ala	438.28 ± 9.79 ^d	564.36 ± 10.49 ^a	481.89 ± 10.82 ^c	517.97 ± 11.84 ^b
	Cys	3.26 ± 0.11 ^b	3.82 ± 0.13 ^a	3.84 ± 0.11 ^a	4.00 ± 0.14 ^a
	Val	28.27 ± 0.72 ^c	29.69 ± 1.39 ^c	32.49 ± 1.46 ^b	37.42 ± 1.5 ^a
	Met	5.26 ± 0.31 ^c	7.74 ± 0.21 ^{ab}	7.35 ± 0.15 ^b	7.90 ± 0.17 ^a
	Ile	5.17 ± 0.18 ^c	5.00 ± 0.18 ^c	7.12 ± 0.55 ^b	9.57 ± 0.47 ^a
	Leu	15.70 ± 1.86 ^{bc}	13.35 ± 2.89 ^c	18.99 ± 2.14 ^b	23.80 ± 2.00 ^a
	Phe	31.70 ± 0.52 ^b	35.96 ± 0.71 ^a	23.86 ± 0.77 ^c	24.39 ± 0.52 ^c
	Lys	9.92 ± 0.33 ^c	11.97 ± 0.3 ^b	10.48 ± 0.33 ^c	12.86 ± 0.30 ^a
	His	25.57 ± 1.55 ^d	34.47 ± 1.45 ^c	41.55 ± 1.49 ^b	47.34 ± 1.20 ^a
	Arg	449.50 ± 11.21 ^c	695.77 ± 6.43 ^b	711.26 ± 7.6 ^b	851.93 ± 11.06 ^a
105DAF	Pro	133.48 ± 2.42 ^a	132.31 ± 2.17 ^a	100.8 ± 2.20 ^b	72.31 ± 2.41 ^c
	总氨基酸	1511.86	2205.67	2057.56	2370.65
	Asp	52.63 ± 1.10 ^c	59.30 ± 0.57 ^b	58.64 ± 0.54 ^b	68.49 ± 1.55 ^a
	Thr	57.38 ± 2.44 ^d	301.83 ± 7.43 ^a	286.14 ± 4.46 ^b	74.48 ± 4.68 ^c
	Ser	77.35 ± 0.55 ^b	70.59 ± 2.12 ^c	81.93 ± 2.35 ^a	80.74 ± 2.52 ^{ab}
	Glu	151.46 ± 1.47 ^c	168.08 ± 2.19 ^b	197.02 ± 3.75 ^a	151.39 ± 2.33 ^c

时间	氨基酸 (mg•L ⁻¹)	对照	白光	红光	蓝光
	Gly	11.54 ± 0.15 ^b	9.76 ± 0.55 ^c	13.97 ± 0.49 ^a	11.41 ± 0.34 ^b
	Ala	446.53 ± 5.10 ^c	458.55 ± 6.45 ^c	552.62 ± 7.37 ^a	502.06 ± 5.82 ^b
	Cys	1.13 ± 0.06 ^b	1.14 ± 0.08 ^b	1.61 ± 0.18 ^a	1.83 ± 0.17 ^a
	Val	28.36 ± 0.56 ^c	28.84 ± 0.77 ^c	33.36 ± 0.82 ^b	34.86 ± 0.79 ^a
	Met	6.11 ± 0.18 ^c	6.84 ± 0.30 ^b	9.74 ± 0.28 ^a	7.17 ± 0.13 ^b
	Ile	5.32 ± 0.35 ^d	6.40 ± 0.50 ^c	7.34 ± 0.42 ^b	8.15 ± 0.32 ^a
	Leu	14.97 ± 1.26 ^b	19.42 ± 2.48 ^a	17.49 ± 2.48 ^{ab}	21.59 ± 1.53 ^b
	Phe	23.21 ± 0.74 ^d	37.68 ± 0.72 ^b	29.48 ± 0.51 ^c	42.38 ± 1.24 ^a
	Lys	11.33 ± 0.33 ^c	11.12 ± 0.19 ^c	13.5 ± 0.41 ^a	12.56 ± 0.38 ^b
	His	31.09 ± 1.09 ^c	38.55 ± 0.55 ^b	36.82 ± 0.76 ^b	42.04 ± 1.05 ^a
	Arg	765.59 ± 7.13 ^c	728.60 ± 7.11 ^d	814.60 ± 9.30 ^b	869.85 ± 9.70 ^a
	Pro	114.71 ± 1.55 ^c	104.12 ± 1.87 ^d	144.14 ± 1.73 ^a	129.68 ± 2.44 ^b
	总氨基酸	1798.70	2042.61	2311.27	2053.98

2.4.4 不同光质对巨峰葡萄 GABA 含量的影响

由图 2-3 可知, 葡萄在转色过程中其 GABA 的含量先降后升, 补光处理能显著提高 GABA 的含量; 红光在 95 和 100DAF 时对其表现出抑制作用, 在 105DAF 时抑制作用消失; 白光在前期无显著作用, 在 105DAF 时能显著促进 GABA 的合成; 蓝光在各个时期均能显著提高其含量。

GABA 在植物果实成熟的过程中充当信号分子, 植物在受到环境胁迫时会促进其含量的积累。高浓度的 GABA 通过改善光合作用、抑制活性氧(ROS)的产生、激活抗氧化酶以及在干旱胁迫下调节气孔开放来提高植物的胁迫耐受性。谷氨酸是 GABA 生物合成的前体, 蓝光处理能提高采后西红柿中 GABA 的含量^[83]。光照处理显著调控谷氨酸脱羧酶基因的表达, 从而促进 GABA 的积累^[84]。

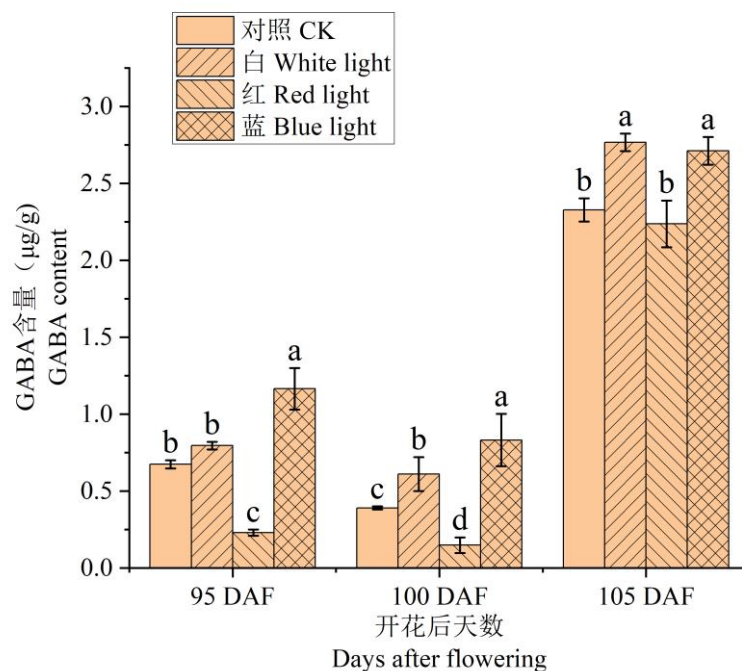


图 2-3 不同光质对巨峰葡萄 GABA 含量的变化

Fig. 2-3 Changes in GABA content of 'Kyoho' grapes with different light quality

2.4.5 不同光质对巨峰葡萄总多酚、总黄酮含量的影响

不同光质对巨峰葡萄总多酚、总黄酮含量的变化如图 2 所示,在转色过程中,总酚含量先升高,后逐渐稳定,补光处理能提高总酚含量(图 2-4 A)。在 95DAF 时,总多酚的含量:蓝光>红光>白光;在 100DAF 时,蓝光能提高总酚含量,白光和红光处理并没有提高其含量,红光甚至抑制了其多酚的合成;在 105DAF 时,白光和蓝光均能显著提高总酚含量,红光显著抑制多酚的合成。总黄酮在转色过程中处于动态平衡,3 种光质对总黄酮的影响存在显著差异(图 2-4 B)。在 95DAF 时,蓝光和白光能显著提高总黄酮含量,红光对其无影响;在 100DAF 时,红光处理抑制了总黄酮的合成;在 105DAF 时,白光和红光使总黄酮的含量下降,蓝光却能提高其含量。

酚类物质与葡萄果皮的色泽、果实香气以及功能活性息息相关。查倩等^[85]在葡萄转色时进行补光处理,发现了补光能显著提高葡萄果皮的花色苷含量。这与我们的研究结果一致。Naing 等^[75]人通过研究不同光源和不同光质和光周期的影响,发现白光能提高所有光诱导性植物中花青素的积累;蓝光能提高果实酚类物质的含量^[63];LED 补光明显提高了草莓果实的总黄酮含量、总酚含量和总抗氧化

能力^[86]。这与本文研究中，蓝光显著提高总酚，总黄酮的结论一致。这与光处理上调了 VvLAR1、VvANR、VvMYBPA1 基因的表达，明显促进了非花色苷单体酚的积累以及黄酮醇类物质的比值有关^[70]。

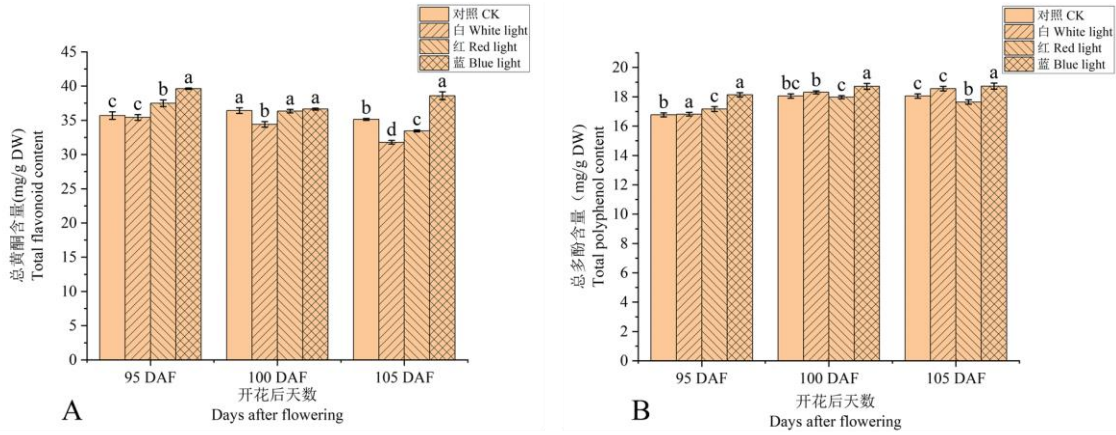


图 2-4 不同光质对巨峰葡萄总多酚、总黄酮含量的变化

Fig. 2-4 Changes of total polyphenol and total flavonoid contents in 'Kyoho' grapes with different light quality

2.4.6 不同光质对巨峰葡萄褪黑素含量的影响

3 种光质对葡萄褪黑素的影响如图 2-5 所示。葡萄在转色过程中，其褪黑素的含量处于一种动静均衡状态，补光处置均明显降低了褪黑素的含量。在 95DAF 时，对褪黑素含量的下降程度表现为红光>白光>蓝光；在 100DAF 时，对褪黑素含量的下降表现为蓝光>白光>红光；在 105DAF 时，蓝光>红光>白光。

褪黑素是一种色氨酸衍生物，有利于助眠，是葡萄果实中重要的功能性营养成分。有研究表明，光照能使酿酒葡萄褪黑素发生降解^[87]。这与我们研究的补光处理会使褪黑素含量下降这一结果相同。蓝光和红光能调节植物褪黑激素合成酶的基因表达和褪黑激素的产生，从而导致褪黑激素水平下降^[88]。

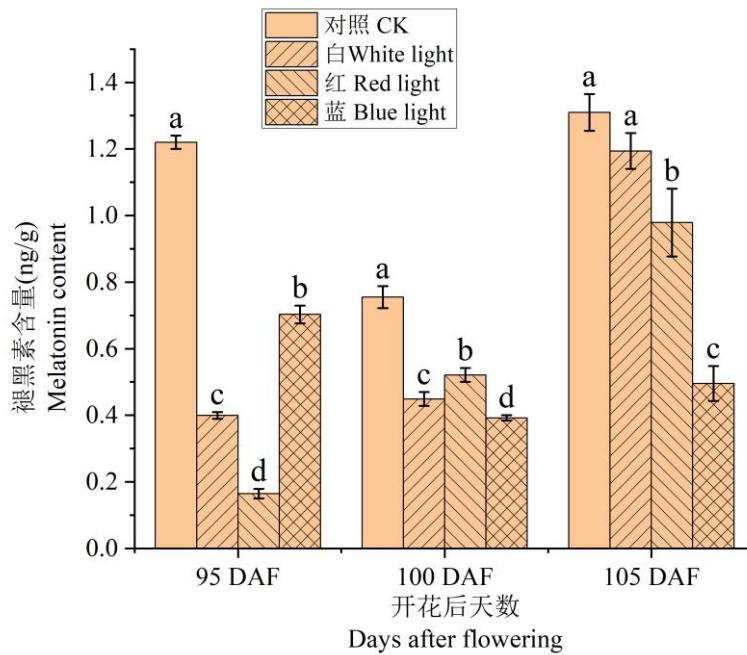


图 2-5 不同光质对巨峰葡萄褪黑素含量的变化

Fig. 2-5 Changes in melatonin content of 'Kyoho' grapes with different light qualities

2.4.7 不同光质对巨峰葡萄抗氧化能力的影响

以 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力来评价 3 种光质对葡萄抗氧化能力的影响。葡萄在转色过程中，其抗氧化能力逐渐降低；3 种光质能提高 DPPH 自由基清除能力（图 2-6 A）；不同光质对 ABTS 自由基清除能力有稍微提高，但并不显著（图 2-6 B）。在 95DAF 时，蓝光能显著提高 DPPH 自由基清除能力，白光和红光的作用不显著；在 100DAF 时，蓝光 > 白光 > 红光；在 105DAF 时蓝光和白光的作用优于红光。

补光处理能影响果实的抗氧化能力，LED 补充光照条件下草莓总抗氧化能力高于自然光照处理，ABTS 含量表现出无显著交互作用,而对草莓 DPPH 含量有显著交互作用^[86]。蓝光处理促进了芥菜芽苗菜生长，改善了营养品质，增强了抗氧化能力，DPPH 自由基清除率显著提高^[89]。这与本文研究的三种光质能显著提高 DPPH 自由基清除能力，但对 ABTS 的促进作用不显著的结果一致。这可能与补光处理促进了植物活性氧积累,诱导超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性提高,使总抗氧化能力增加^[90]。

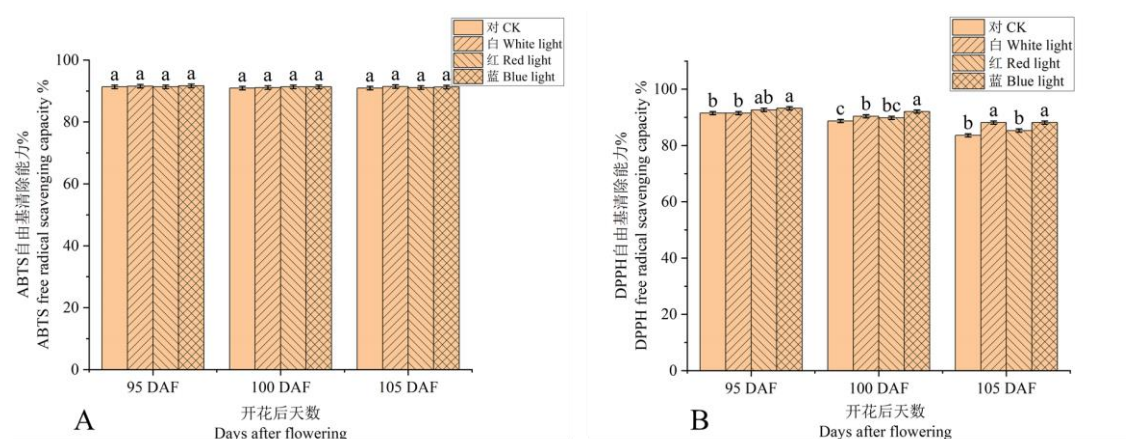


图 2-6 不同光质对巨峰葡萄抗氧化能力的变化

Fig. 2-6 Changes in the antioxidant capacity of 'Kyoho' grapes with different light qualities

2.4.8 巨峰葡萄果实中功能活性物质及抗氧化能力相关性分析

不同光质照射下葡萄果实中功能活性物质及抗氧化能力相关性分析如图 6 所示。可溶性固形物与还原糖 ($P < 0.01$)，花色苷, Asp 显著正相关 ($P < 0.05$)；可滴定酸与 GABA、DPPH 显著负相关 ($P < 0.05$)；Phe 与 His、DPPH 显著正相关 ($P < 0.05$)；花色苷与 Asp ($P < 0.01$)、Leu、Phe、His 显著正相关 ($P < 0.05$)；褪黑素与 Asp、Ile 显著负相关 ($P < 0.05$)；Leu 与 Phe ($P < 0.01$)、His ($P < 0.05$) 显著正相关；Cys 与 Val ($P < 0.01$)、Arg ($P < 0.05$) 正相关；Asp 与 Leu、His 显著正相关 ($P < 0.05$)；Ala 与 Met、Lys 显著正相关 ($P < 0.05$)；Lys 与 Pro 正相关 ($P < 0.05$)。

葡萄果实成熟时各个功能成分与抗氧化能力具有一定的相关性。我们发现可滴定酸、Phe 与 DPPH 相关性显著，Phe 与花色苷显著正相关。朱雪洋等^[91]将黑青稞通过不同光照处理萌发后发现抗氧化能力与褪黑素、总多酚及总黄酮显著正相关，这与我们研究的结果有所不同，这可能是因为我们通过补光处理使褪黑素含量显著下降，导致总体上抗氧化能力与酚类物质相关性不显著。刘新等^[92]在鲜味产品中对各个游离氨基酸分析发现 Glu 与其它各个游离氨基酸呈负相关，且各个氨基酸之间呈正相关，这一结果与我们的研究发现 Leu 与 Phe ($P < 0.01$)、His, Cys 与 Val ($P < 0.01$)、Arg, Asp 与 Leu、His, Ala 与 Met、Lys, Lys 与 Pro 均呈正相关的结果一致。

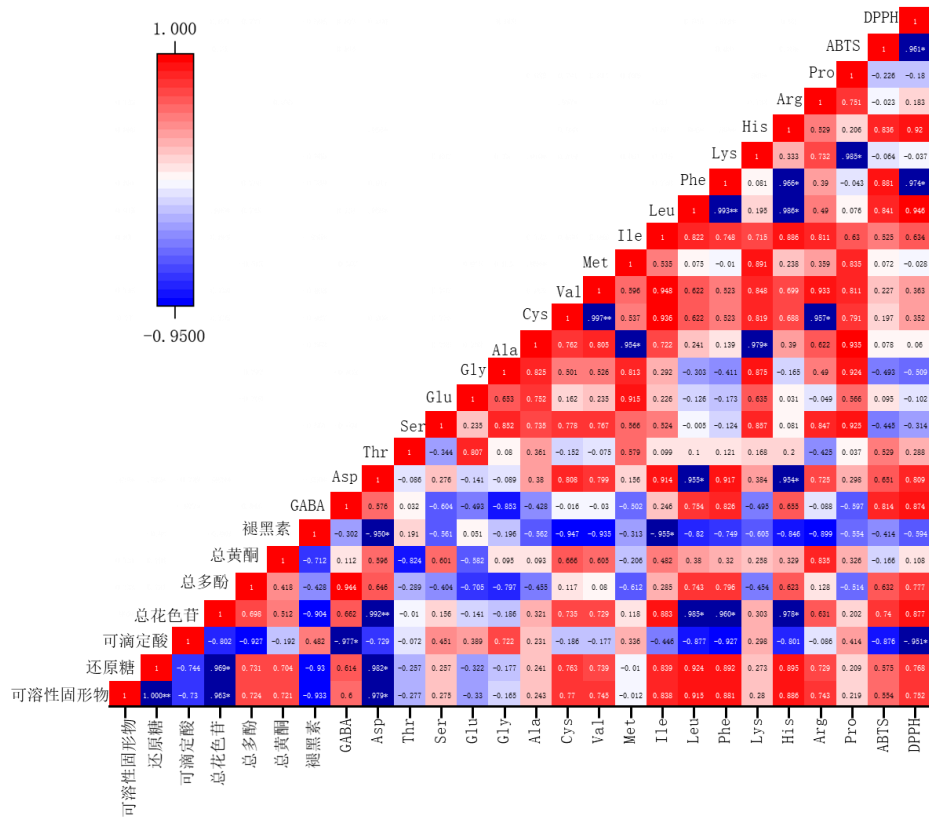


图 2-7 巨峰葡萄果实中功能活性物质及抗氧化能力相关性分析

Fig. 2-7 Correlation analysis of functional active substances and antioxidant capacity in
'Kyoho' grapes

2.5 本章小结

本章为了研究夜间用 LED 灯补光对巨峰葡萄果实功能成分和品质的影响，遴选出最好的夜间补光光源。采用 3 种 LED 光源（白光、红光、蓝光）对在转色期的巨峰葡萄进行夜间延时补光处理，以设施内夜间不补光处理作为对照，分别在 95DAF、100DAF、105DAF 的样品进行分析。主要研究结论如下：

（1）不同光质处理下，白、红、蓝光能显著提高花色苷的含量，加快褪黑素的降解。在成熟过程中，花色苷含量从 0.13 mg/g 逐渐升高到 0.39 mg/g，蓝光的处理效果最好，最高时是对照的 2.55 倍。与对照组相比，三种补光处理对果实重量和纵横径的影响不显著，且褪黑素与 Asp、Ile 显著负相关。

(2) 蓝光能显著提高可溶性固形物、还原糖、GABA、总多酚含量以及抗氧化能力,降低可滴定酸,白光次之;可溶性固形物与还原糖($P<0.01$)、花色苷、Asp 显著正相关;可滴定酸与 GABA、DPPH 显著负相关;Phe 与 His、DPPH 显著正相关;花色苷与 Asp ($P<0.01$)、Phe、Leu、His 显著正相关。

(3) 葡萄氨基酸含量发生动态变化,在 105DAF 三种光质均能显著提高 Asp、Thr、Met、Ile、Phe 的含量,白光能显著提高 Glu、Leu、His 的含量,红光和蓝光显著提高 Ala, Cys, Val, Lys, His, Arg, Pro 的含量;且 Leu 与 Phe ($P<0.01$)、His, Cys 与 Val ($P<0.01$)、Arg, Asp 与 Leu、His, Ala 与 Met、Lys, Lys 与 Pro 显著正相关。

(4) 红光能显著提高总游离氨基酸、总黄酮含量,白光和红光对可溶性固形物和可滴定酸的影响不显著。我们研究认为,转色期对设施葡萄在夜间进行补光处理能有效改善其果实品质,且蓝光效果最好。

第3章 夜间蓝光不同照射时长处理对葡萄花色苷含量和果实品质的影响

3.1 引言

葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 是日常生活中常见的鲜食水果之一。葡萄作为新鲜水果食用, 也被用作生产各种产品的原料, 如葡萄酒、葡萄汁、葡萄干以及其他功能性葡萄副产品^[93]。它含有原花青素、花色苷、氨基酸、黄酮和多酚等多种功能活性成分, 其含量在葡萄的不同组织中有很大的差异^[95]。

近年来, 通过 LED 补光处理来调控植物的生长发育已被广泛报道。Li 等^[65]通过 LED 补光处理发现蓝光和混合光照射能提高葡萄叶片的光合能力并改善葡萄果实组成。胡长久等^[96]通过冬季补光处理发现对葡萄果实的纵横径及单果质量无明显影响, 但能显著提高果实可溶性固形物含量和糖酸比; 显著降低有机酸、鲜味和苦味氨基酸含量。红蓝光处理有利于葡萄花青素和糖的积累, 蓝光处理的葡萄挥发性化合物含量最高^[97]。蓝光是最有利于葡萄愈伤组织总酚类物质积累的处理, 混合波长的光有利于类黄酮的积累^[98]。然而, 不同的光照时间也是调节植物各种生理过程的关键环境因素。光周期反映了植物对不断变化的环境的适应性, 在植物生长发育和繁殖的过程中具有重要作用^[99]。Wu 等^[100]发现不同的光周期影响番茄代谢物的积累, 长时间光照会增强光合作用和新陈代谢, 促进番茄幼苗的快速生长。延长一定的光照时间有利于提高植物体的光合作用能力, 有利于植物的生长发育, 还能提高植物体内的蛋白质、糖、香气成分和黄酮多酚类等代谢物的含量^[101]。车功恒等^[102]发现不同蓝光时长能显著影响甘蓝芽苗菜的抗坏血酸、花色苷和硫代葡萄糖苷等营养成分。不同的光周期能显著影响番茄幼苗的生理生化功能和番茄产量^[103]。不同时长的蓝光处理能显著提高桃果皮的颜色、花色苷含量和果实品质^[104]。

目前, 采用不同光照时长处理的方法已经在芽苗菜, 西红柿, 桃等物种中进行了少量研究。然而, 夜间补充不同时长的蓝光去调控葡萄果实的研究还尚未报道。因此, 本文在葡萄处于转色的过程中, 通过夜间延时补充不同时长的蓝光处

理,探究对其功能活性成分和果实品质的影响,为提高葡萄果实的功能成分和综合品质提供理论基础和现实依据。

3.2 材料与方法

3.2.1 实验地点与材料

同 2.2.1。

3.2.2 实验试剂

同 2.2.2。

3.2.3 实验器材

同 2.2.3。

3.2.4 实验方法

3.2.4.1 实验补光处理

试验于葡萄转色期(2024 年 6 月 27 日)开始补光,至葡萄成熟时(2024 年 8 月 14 日)补光终止。每天夜间采用蓝光连续补光 3h(20:00-23: 00)、6h(20: 00-次日 2:00)、9h(20: 00-次日 5:00)、12h(19: 00-次日 7:00),蓝光波长为 450nm,将不进行 LED 灯照射作为对照;补光灯安装的位置距离葡萄约 30 cm,不同处理组间留有 1 株保护树,排除处理间的相互干扰。每种光源 3 个重复,分别在补光期每隔 5 天进行采样,每个处理采摘 30 颗葡萄,分别从 10 穗葡萄上采摘,每穗葡萄从上、中和下部各采 2 粒葡萄,采集的葡萄样品采用液氮速冻,放置-80°冰箱保存。

3.2.4.2 样品提取液制备

同 2.2.4.2。

2.2.4.3 花色苷含量测定

同 2.2.4.3。

3.2.4.4 总多酚含量测定

同 2.2.4.4。

3.2.4.5 总黄酮含量测定

同 2.2.4.5。

3.2.4.6 褪黑素含量的测定

同 2.2.4.6。

3.2.4.7 γ -氨基丁酸(GABA)含量的测定

同 2.2.4.7。

3.2.4.8 抗氧化能力测定

参考徐宁莉等^[105]方法检测样品的 ABTS 和 DPPH 自由基清除能力,以维生素 C(Vc)的浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标曲,结果以 Vc 当量计($\mu\text{mol/L}$)。

3.3 数据处理

同 2.3.

3.4 结果与分析

3.4.1 不同时长蓝光对巨峰葡萄花色苷含量的影响

不同时长蓝光对葡萄总花色苷含量的变化如图 3-1 所示。在不同的蓝光照射时间下,不同照射时长在不同的 DAF 具有不同的影响。在 90DAF 时,补充不同时长的蓝光均对总花色苷有显著提高,且蓝 6、蓝 9 和蓝 12 的影响优于蓝 3;在 95DAF 时,不同时长的蓝光的表现为蓝 9>蓝 6>蓝 12>蓝 3,在 100DAF 时,蓝 3 对总花色苷含量的影响不显著,且蓝 9>蓝 6>蓝 12,在 105DAF 时,蓝 12 对总花色苷的影响不显著,且蓝 9>蓝 6>蓝 3。总之,蓝 9 在 90-105DAF 期间的表现最优。

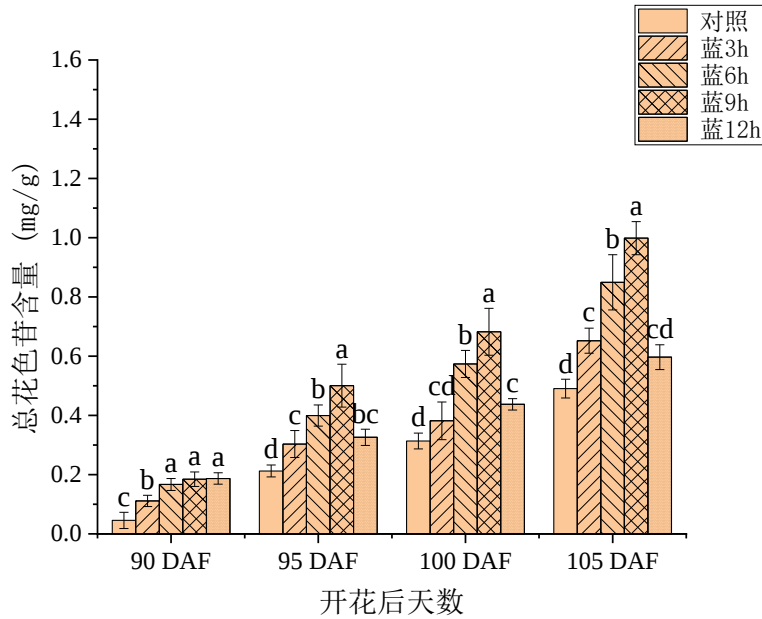


图 3-1 不同时长蓝光对巨峰葡萄花色苷含量的影响

Fig. 3-1 Effect of different duration of blue light on the content of anthocyanin in 'Kyoho' grapes

3.4.2 不同时长蓝光对巨峰葡萄果实品质的影响

由表 3-1 可知，夜间补光处理对处于转色期的葡萄能显著影响其还原糖、可溶性固形物、PH 值及总酸度，但对单果重和纵横径的影响并不显著。在 90DAF-105DAF 期间，与对照组相比，蓝光 9h 能显著提高葡萄可溶性固形物和还原糖的含量，降低葡萄的总酸度，使其 PH 值升高，且效果最好。蓝光 12h 在葡萄果实糖酸含量方面并不优于蓝光 9h，由此可见，果实品质的优劣并不与补光时长成正比，这可能是长时间的补光处理影响了葡萄的昼夜节律^[106]。

3.4.3 不同时长蓝光对巨峰葡萄游离氨基酸含量的影响

由表 3-2 可知，葡萄在成熟的过程中其游离氨基酸的含量发生了动态变化。在 90DAF 时，蓝光 12h 能显著提高 Asp、Ser、Ile、Phe、Lys、His、Arg 和 Pro 的含量；蓝光 9h 和蓝光 6h 均能显著提高 Ile、His、Thr、Glu、Ala、Cys 的含量；蓝光 6h 还能提高 Gly、Val 和 Pro 的含量。在 95DAF 时，不同时长的蓝光处理对 Ala、Met、His 和 Pro 的含量影响较大。在 100DAF 时，不同时长蓝光处理显著提高了 Ser、Ala、Val、Ile 和 His 的含量。在 105DAF 时，不同时长蓝光均能

显著提高 Ala、Val、Met、Ile、Leu、Phe、His 和 Arg 的含量；此外，蓝光 9h 能显著提高 Asp、Ser、Glu、Gly、Cys 和 Pro 的含量。不同时长的蓝光在一定程度上能促进葡萄游离氨基酸的积累，在葡萄成熟时其蓝光 9h 的效果较好。

表 3-1 不同时长蓝光对巨峰葡萄果实品质的影响

Table 3-1 Influence of different duration of blue light on the quality of the berries of 'Kyoho' grapes

时间	处理	单果重(g)	纵径(mm)	横径(mm)	还原糖含量%	可溶性固形物%	PH 值	总酸度%
90DAF	对照	12.03 ± 1.85 ^a	27.37 ± 1.54 ^a	27.42 ± 1.65 ^a	10.00 ± 0.01 ^c	12.05 ± 0.07 ^c	3.42 ± 0.04 ^c	7.25 ± 0.22 ^a
	蓝 3	12.23 ± 1.55 ^a	27.87 ± 1.66 ^a	27.07 ± 0.98 ^a	10.71 ± 0.03 ^{bc}	14.15 ± 0.21 ^b	3.45 ± 0.03 ^{bc}	7.19 ± 0.29 ^a
	蓝 6	12.37 ± 0.78 ^a	27.87 ± 0.81 ^a	27.30 ± 0.37 ^a	10.90 ± 0.09 ^{ab}	14.35 ± 0.07 ^b	3.46 ± 0.02 ^{bc}	7.06 ± 0.11 ^a
	蓝 9	12.50 ± 1.31 ^a	27.45 ± 0.68 ^a	27.68 ± 0.97 ^a	11.67 ± 0.03 ^a	14.95 ± 0.07 ^a	3.5 ± 0.03 ^b	7.00 ± 0.57 ^a
	蓝 12	12.53 ± 0.93 ^a	27.31 ± 0.45 ^a	27.66 ± 0.81 ^a	10.85 ± 0.09 ^b	14.85 ± 0.07 ^a	3.6 ± 0.03 ^a	7.00 ± 0.57 ^a
95DAF	对照	12.33 ± 0.96 ^a	27.38 ± 0.98 ^a	27.91 ± 0.84 ^a	10.50 ± 0.03 ^c	14.45 ± 0.64 ^b	3.46 ± 0.03 ^c	6.75 ± 0.19 ^a
	蓝 3	12.53 ± 1.10 ^a	27.45 ± 0.41 ^a	27.78 ± 0.79 ^a	10.95 ± 0.05 ^{bc}	15.60 ± 0.57 ^{ab}	3.49 ± 0.03 ^{bc}	6.56 ± 0.38 ^{ab}
	蓝 6	12.60 ± 1.35 ^a	27.98 ± 0.98 ^a	27.58 ± 0.77 ^a	11.40 ± 0.01 ^{ab}	15.97 ± 0.61 ^a	3.52 ± 0.05 ^{bc}	6.31 ± 0.11 ^b
	蓝 9	12.83 ± 1.26 ^a	28.13 ± 1.30 ^a	27.79 ± 1.18 ^a	11.81 ± 0.05 ^a	16.60 ± 0.14 ^a	3.56 ± 0.04 ^{ab}	6.31 ± 0.11 ^b
	蓝 12	12.77 ± 1.29 ^a	27.91 ± 1.14 ^a	27.70 ± 0.89 ^a	11.09 ± 0.04 ^b	16.45 ± 0.21 ^a	3.61 ± 0.04 ^a	6.31 ± 0.11 ^b

时间	处理	单果重(g)	纵径(mm)	横径(mm)	还原糖含量%	可溶性固形物%	PH 值	总酸度%
100DAF	对照	12.80 ± 1.30 ^a	28.18 ± 1.19 ^a	27.72 ± 0.92 ^a	10.68 ± 0.02 ^c	15.00 ± 0.71 ^b	3.56 ± 0.04 ^b	6.38 ± 0.38 ^a
	蓝 3	12.93 ± 1.40 ^a	28.19 ± 1.04 ^a	27.78 ± 0.90 ^a	11.22 ± 0.03 ^b	16.90 ± 0.28 ^a	3.61 ± 0.04 ^b	6.00 ± 0.38 ^a
	蓝 6	13.03 ± 1.45 ^a	28.23 ± 1.14 ^a	27.79 ± 0.79 ^a	11.41 ± 0.01 ^b	17.10 ± 0.85 ^a	3.61 ± 0.03 ^b	5.88 ± 0.43 ^a
	蓝 9	13.37 ± 1.99 ^a	28.35 ± 1.45 ^a	27.97 ± 1.23 ^a	12.01 ± 0.02 ^a	18.00 ± 0.28 ^a	3.61 ± 0.04 ^b	5.75 ± 0.22 ^a
	蓝 12	12.73 ± 1.36 ^a	28.47 ± 1.24 ^a	27.53 ± 0.72 ^a	11.18 ± 0.04 ^b	17.00 ± 0.14 ^a	3.72 ± 0.07 ^a	5.88 ± 0.43 ^a
105DAF	对照	13.17 ± 1.95 ^a	28.22 ± 1.49 ^a	28.09 ± 1.35 ^a	10.89 ± 0.01 ^c	16.50 ± 0.57 ^b	3.67 ± 0.06 ^b	6.00 ± 0.38 ^a
	蓝 3	13.20 ± 1.47 ^a	28.52 ± 1.10 ^a	27.89 ± 0.98 ^a	11.36 ± 0.03 ^b	17.15 ± 0.21 ^b	3.69 ± 0.02 ^b	5.75 ± 0.22 ^{ab}
	蓝 6	13.23 ± 1.55 ^a	28.27 ± 1.17 ^a	27.77 ± 1.20 ^a	11.49 ± 0.05 ^b	17.25 ± 0.64 ^{ab}	3.69 ± 0.03 ^b	5.63 ± 0.19 ^{ab}
	蓝 9	13.50 ± 1.70 ^a	28.09 ± 1.16 ^a	28.28 ± 0.93 ^a	12.06 ± 0.01 ^a	18.25 ± 0.21 ^a	3.81 ± 0.03 ^a	5.25 ± 0.19 ^b
	蓝 12	13.20 ± 1.65 ^a	27.95 ± 1.42 ^a	27.70 ± 1.13 ^a	11.44 ± 0.02 ^b	17.15 ± 0.21 ^b	3.64 ± 0.03 ^b	5.88 ± 0.22 ^a

注：表中不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平存在显著差异。蓝 3 为补光时间 3h，蓝 6 为补光时间 6h，蓝 9 为补光时间 9h，蓝 12 为补光时间 12h，下同。

表 3-2 不同时长蓝光对巨峰葡萄游离氨基酸含量的影响

Table 3-2 Effect of different duration of blue light on free amino acid content of 'Kyoho' grapes

时间	氨基酸含量	对照	蓝 3	蓝 6	蓝 9	蓝 12
90DAF	Asp	67.51 ± 6.75 ^b	66.68 ± 3.17 ^b	70.19 ± 3.79 ^b	69.97 ± 3.80 ^b	86.59 ± 2.48 ^a
	Thr	166.23 ± 8.07 ^d	174.34 ± 9.25 ^d	359.34 ± 10.52 ^a	276.76 ± 11.45 ^b	234.41 ± 15.02 ^c
	Ser	66.66 ± 2.30 ^c	80.51 ± 2.01 ^b	95.20 ± 3.31 ^a	66.79 ± 6.21 ^c	95.40 ± 4.78 ^a
	Glu	225.59 ± 4.95 ^d	213.40 ± 3.51 ^d	328.06 ± 5.06 ^a	276.07 ± 9.36 ^b	255.50 ± 10.50 ^c
	Gly	5.12 ± 0.41 ^{cd}	6.61 ± 0.41 ^b	9.20 ± 0.70 ^a	4.48 ± 0.51 ^d	5.85 ± 0.80 ^{bc}
	Ala	359.44 ± 9.57 ^c	389.52 ± 10.36 ^c	641.84 ± 13.7 ^a	442.39 ± 19.87 ^b	450.49 ± 23.58 ^b
	Cys	1.20 ± 0.20 ^b	1.26 ± 0.15 ^b	1.76 ± 0.25 ^a	1.18 ± 0.22 ^b	1.33 ± 0.30 ^{ab}
	Val	17.13 ± 2.13 ^c	19.72 ± 2.15 ^c	28.23 ± 2.81 ^a	21.01 ± 2.96 ^{bc}	25.09 ± 2.40 ^{ab}
	Met	7.22 ± 1.18 ^a	6.14 ± 0.97 ^a	5.49 ± 1.27 ^a	6.26 ± 0.84 ^a	5.46 ± 0.76 ^a
	Ile	5.48 ± 0.58 ^b	5.79 ± 0.30 ^b	12.45 ± 2.71 ^a	14.45 ± 3.37 ^a	14.88 ± 2.97 ^a
	Leu	17.53 ± 1.84 ^a	17.52 ± 2.90 ^a	20.34 ± 3.17 ^a	21.55 ± 2.58 ^a	22.85 ± 2.99 ^a
	Phe	11.13 ± 1.11 ^c	18.27 ± 1.10 ^b	25.52 ± 2.30 ^a	11.34 ± 1.32 ^c	18.76 ± 1.63 ^b
	Lys	9.07 ± 0.92 ^c	14.18 ± 1.14 ^a	11.49 ± 1.50 ^b	7.47 ± 0.63 ^c	14.46 ± 1.41 ^a

时间	氨基酸含量	对照	蓝 3	蓝 6	蓝 9	蓝 12
90DAF	His	27.86 ± 1.87 ^c	28.05 ± 1.89 ^c	38.05 ± 2.30 ^b	35.84 ± 2.24 ^b	46.49 ± 3.69 ^a
	Arg	1192.72 ± 15.70 ^c	1266.05 ± 34.77 ^b	1107.70 ± 19.96 ^d	1024.86 ± 25.02 ^e	1628.67 ± 58.67 ^a
	Pro	66.49 ± 4.49 ^{cd}	76.56 ± 3.74 ^{bc}	101.65 ± 9.50 ^a	62.5 ± 3.83 ^d	88.09 ± 10.06 ^{ab}
95DAF	Asp	57.50 ± 2.55 ^b	54.71 ± 2.05 ^{bc}	58.03 ± 2.02 ^b	50.98 ± 2.73 ^c	69.74 ± 4.60 ^a
	Thr	168.44 ± 17.51 ^b	203.58 ± 7.84 ^a	70.37 ± 10.16 ^d	219.2 ± 13.96 ^a	134.55 ± 13.85 ^c
	Ser	76.69 ± 3.05 ^c	87.98 ± 2.57 ^b	68.22 ± 2.80 ^d	106.1 ± 4.58 ^a	92.60 ± 3.91 ^b
	Glu	234.08 ± 13.99 ^b	282.34 ± 9.74 ^a	179.53 ± 9.51 ^c	269.38 ± 9.03 ^a	264.87 ± 5.60 ^a
	Gly	7.49 ± 0.50 ^b	9.95 ± 0.95 ^a	7.30 ± 0.36 ^b	9.56 ± 0.96 ^a	10.05 ± 1.01 ^a
	Ala	432.64 ± 22.45 ^d	576.19 ± 45.49 ^b	514.31 ± 23.72 ^c	475.92 ± 23.10 ^{cd}	701.71 ± 20.52 ^a
	Cys	1.38 ± 0.20 ^b	1.54 ± 0.18 ^b	1.36 ± 0.23 ^b	1.41 ± 0.20 ^b	2.34 ± 0.34 ^a
	Val	25.07 ± 2.96 ^c	28.59 ± 2.53 ^{bc}	26.38 ± 3.12 ^c	32.33 ± 3.10 ^b	39.31 ± 3.05 ^a
	Met	7.43 ± 0.05 ^a	6.44 ± 1.06 ^{ab}	6.21 ± 0.21 ^{ab}	5.80 ± 0.82 ^b	6.48 ± 0.96 ^{ab}
	Ile	5.72 ± 0.11 ^c	6.60 ± 1.27 ^{bc}	16.78 ± 2.85 ^a	15.21 ± 3.44 ^a	12.49 ± 4.78 ^{ab}
	Leu	17.35 ± 1.67 ^b	17.85 ± 2.38 ^b	23.61 ± 1.25 ^a	22.85 ± 2.99 ^a	22.87 ± 2.81 ^a
	Phe	20.42 ± 1.89 ^{bc}	22.05 ± 2.04 ^b	21.24 ± 1.95 ^{bc}	17.38 ± 2.38 ^c	31.27 ± 2.58 ^a

时间	氨基酸含量	对照	蓝 3	蓝 6	蓝 9	蓝 12
95DAF	Lys	10.27 ± 2.03 ^{ab}	11.39 ± 1.77 ^a	6.69 ± 1.84 ^b	13.48 ± 2.55 ^a	13.35 ± 2.15 ^a
	His	32.19 ± 3.83 ^b	33.5 ± 4.07 ^b	28.07 ± 3.05 ^b	50.27 ± 3.23 ^a	49.5 ± 3.67 ^a
	Arg	1038.8 ± 39.39 ^c	1190.38 ± 90.33 ^b	686.54 ± 85.97 ^d	1361.88 ± 71.55 ^a	1434.11 ± 63.98 ^a
	Pro	85.33 ± 5.05 ^d	92.28 ± 4.10 ^{cd}	102.43 ± 4.32 ^{ab}	97.82 ± 5.13 ^{bc}	107.56 ± 5.50 ^a
100DAF	Asp	46.59 ± 3.05 ^b	75.33 ± 4.09 ^a	72.17 ± 3.72 ^a	77.32 ± 2.97 ^a	76.60 ± 3.43 ^a
	Thr	79.56 ± 9.45 ^c	112.68 ± 10.18 ^b	118.91 ± 9.82 ^b	122.53 ± 10.5 ^b	147.30 ± 10.70 ^a
	Ser	57.00 ± 2.76 ^d	112.34 ± 2.07 ^b	111.23 ± 2.55 ^b	120.48 ± 3.63 ^a	104.68 ± 4.38 ^c
	Glu	246.48 ± 16.45 ^c	345.51 ± 15.13 ^a	239.26 ± 13.75 ^c	305.29 ± 14.89 ^b	328.63 ± 14.06 ^{ab}
	Gly	8.66 ± 0.64 ^c	12.08 ± 1.07 ^{ab}	10.17 ± 1.10 ^{bc}	10.70 ± 1.12 ^{bc}	13.54 ± 1.17 ^a
	Ala	451.3 ± 20.71 ^c	809.90 ± 19.90 ^a	514.13 ± 16.10 ^d	653.7 ± 23.03 ^c	742.25 ± 41.69 ^b
	Cys	1.47 ± 0.42 ^c	3.27 ± 0.38 ^a	1.72 ± 0.62 ^c	2.97 ± 0.31 ^{ab}	2.27 ± 0.22 ^{bc}
	Val	21.9 ± 4.81 ^c	36.44 ± 4.74 ^{ab}	31.94 ± 2.12 ^b	40.06 ± 3.46 ^a	42.34 ± 4.11 ^a
	Met	5.26 ± 0.31 ^a	6.27 ± 0.81 ^a	6.39 ± 0.67 ^a	5.9 ± 0.93 ^a	6.29 ± 1.01 ^a
	Ile	5.17 ± 0.18 ^b	9.27 ± 0.70 ^a	9.57 ± 1.36 ^a	10.91 ± 0.83 ^a	9.16 ± 1.11 ^a
	Leu	15.70 ± 1.86 ^b	24.03 ± 1.01 ^a	23.8 ± 2.00 ^a	21.70 ± 3.78 ^a	20.05 ± 3.05 ^{ab}

时间	氨基酸含量	对照	蓝 3	蓝 6	蓝 9	蓝 12
100DAF	Phe	21.50 ± 1.41 ^{bc}	22.99 ± 1.43 ^b	19.42 ± 1.44 ^c	20.61 ± 1.52 ^{bc}	41.02 ± 1.01 ^a
	Lys	10.06 ± 2.00 ^b	10.81 ± 2.06 ^b	11.68 ± 1.85 ^b	16.37 ± 1.30 ^a	17.10 ± 2.06 ^a
	His	26.48 ± 2.94 ^c	37.42 ± 2.45 ^d	46.07 ± 2.06 ^c	56.78 ± 3.09 ^b	64.03 ± 5.01 ^a
	Arg	1073.03 ± 69.73 ^d	886.4 ± 63.88 ^c	1243.07 ± 42.65 ^c	1521.90 ± 58.38 ^b	1746.35 ± 44.30 ^a
	Pro	108.36 ± 6.91 ^b	122.95 ± 7.49 ^b	69.52 ± 9.02 ^c	126.28 ± 10.86 ^b	184.06 ± 14.17 ^a
105DAF	Asp	52.13 ± 1.85 ^c	51.21 ± 3.14 ^c	68.49 ± 1.55 ^a	65.62 ± 5.04 ^{ab}	60.82 ± 2.50 ^b
	Thr	56.71 ± 2.98 ^c	131.58 ± 20.84 ^a	74.48 ± 4.68 ^{bc}	77.90 ± 6.26 ^b	63.58 ± 7.00 ^{bc}
	Ser	77.68 ± 0.77 ^c	86.48 ± 5.82 ^c	80.74 ± 2.52 ^c	131.04 ± 5.00 ^a	98.07 ± 7.35 ^b
	Glu	151.79 ± 2.8 ^c	159.89 ± 4.88 ^c	151.39 ± 2.33 ^c	322.3 ± 21.9 ^a	254.45 ± 13.46 ^b
	Gly	11.54 ± 0.91 ^b	13.35 ± 1.17 ^b	11.41 ± 0.34 ^b	16.19 ± 1.18 ^a	18.14 ± 1.09 ^a
	Ala	446.53 ± 5.10 ^d	525.43 ± 25.31 ^c	502.06 ± 5.82 ^c	761.61 ± 38.44 ^a	632.33 ± 26.75 ^b
	Cys	1.17 ± 0.12 ^b	4.20 ± 0.61 ^a	1.83 ± 0.17 ^b	5.18 ± 0.86 ^a	4.22 ± 0.48 ^a
	Val	28.36 ± 0.56 ^d	49.71 ± 4.99 ^a	34.86 ± 0.79 ^c	54.19 ± 3.89 ^a	42.34 ± 3.36 ^b
	Met	5.78 ± 0.69 ^b	10.02 ± 2.03 ^a	9.07 ± 1.51 ^a	10.52 ± 0.82 ^a	8.81 ± 0.97 ^a
	Ile	4.98 ± 1.73 ^d	15.36 ± 1.26 ^a	8.15 ± 0.32 ^c	10.92 ± 1.34 ^b	8.48 ± 0.94 ^c

时间	氨基酸含量	对照	蓝 3	蓝 6	蓝 9	蓝 12
105DAF	Leu	14.97 ± 1.26^c	31.97 ± 2.75^a	30.92 ± 1.96^a	32.62 ± 2.38^a	21.27 ± 1.43^b
	Phe	23.21 ± 0.74^d	44.16 ± 4.00^a	37.68 ± 0.72^b	41.42 ± 3.26^{ab}	30.55 ± 3.16^c
	Lys	11.33 ± 0.33^c	24.94 ± 4.18^a	12.56 ± 0.38^c	17.76 ± 2.11^b	20.32 ± 3.01^{ab}
	His	31.09 ± 1.09^d	56.96 ± 4.17^{ab}	42.04 ± 1.05^c	61.38 ± 5.45^a	52.58 ± 5.00^b
	Arg	765.59 ± 7.13^c	1424.83 ± 25.01^a	869.85 ± 9.70^d	1114.70 ± 31.01^c	1308.42 ± 47.85^b
	Pro	114.71 ± 1.55^{cd}	108.74 ± 9.78^d	129.68 ± 2.44^{bc}	172.85 ± 9.64^a	133.84 ± 12.44^b

3.4.4 不同时长蓝光对巨峰葡萄总多酚及总黄酮含量的影响

由图 3-2A 可知, 在 90-105DAF 期间, 葡萄的总多酚含量随着葡萄的成熟而降低。在 105DAF 时, 不同时长蓝光处理能显著提高葡萄总多酚的含量。在 90DAF 和 100DAF 时, 蓝光 9h 能使其总多酚含量显著提高。由图 3-2B 可知, 除了蓝光 3h 处理以外, 夜间其他不同时长蓝光处理能提高总黄酮的含量。在 90-100DAF 时, 蓝光 9h 的处理效果最好。蓝光 6h 次之; 在 105DAF 时, 蓝光 12h 的处理效果优于蓝光 9h 和蓝光 6h。

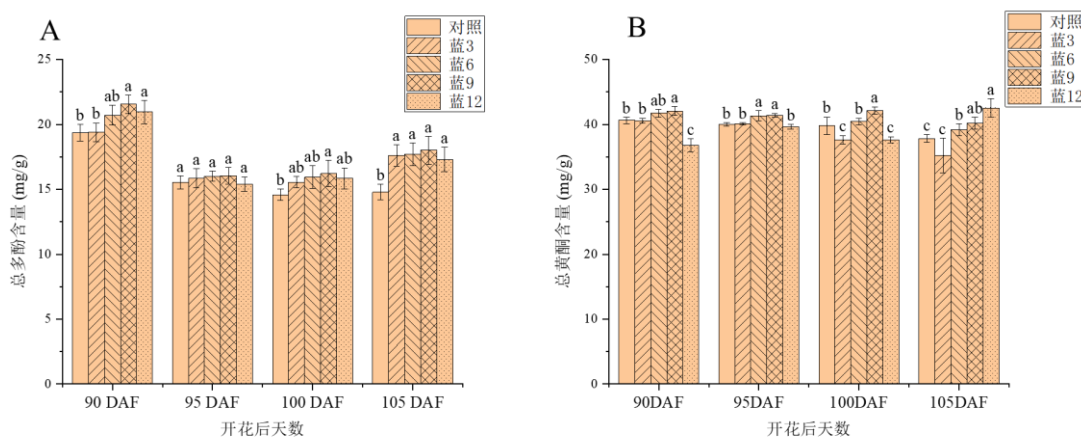


图 3-2 不同时长蓝光对巨峰葡萄总多酚(A)、总黄酮含量(B)的影响

Fig. 3-2 Effects of different duration of blue light on total polyphenol (A) and total flavonoid content (B) of 'Kyoho' grapes

3.4.5 不同时长蓝光对巨峰葡萄褪黑素含量的影响

由图 3-3 可知, 在葡萄成熟的过程中, 褪黑素的含量逐渐升高, 补光处理会使葡萄褪黑素的含量下降, 夜间补光的时间越长, 其褪黑素含量降解的越多。这是因为褪黑素在植物体内不稳定, 易发生光解^[107]。在 90 DAF 时, 蓝光 3h 能显著提高其褪黑素的含量, 这可能是因为蓝光处理会促进葡萄的成熟^[77], 而此时的褪黑素合成速率大于其分解速率从而使其含量在葡萄体内积累。

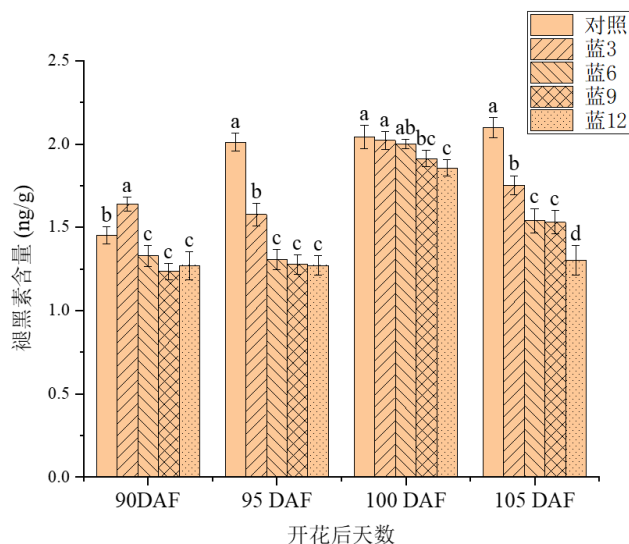


图 3-3 不同时长蓝光对巨峰葡萄褪黑素含量的影响

Fig. 3-3 Effect of different duration of blue light on melatonin content of 'Kyoho' grapes

3.4.6 不同时长蓝光对巨峰葡萄 GABA 含量的影响

由图 3-4 可知，葡萄在成熟过程中其 GABA 的含量会有所升高。夜间不同时长的蓝光处理能显著提高其 GABA 的含量。在 90DAF 时，蓝光 3h、蓝光 6h 和蓝光 12h 均能显著提高其含量。在 95 DAF 时，蓝光 9h 的效果最好，蓝光 6h 次之；在 100-105 DAF 时，其表现为蓝 12h>蓝 9h>蓝 6h。

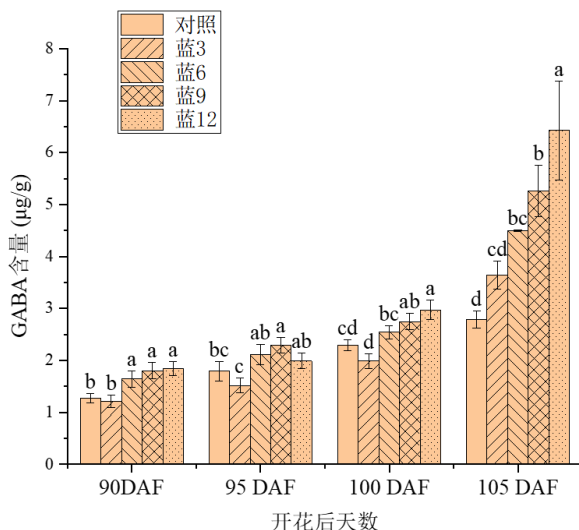


图 3-4 不同时长蓝光对巨峰葡萄 GABA 含量的影响

Fig. 3-4 Effect of different duration of blue light on GABA content of 'Kyoho' grapes

3.4.7 不同时长蓝光对巨峰葡萄抗氧化能力的影响

由图 3-5A 可知, 在夜间不同时长的蓝光处理下, 处于转色期的葡萄的 ABTS 自由基清除能力的影响并不显著。在 90-105 DAF 期间, 不同时长蓝光处理均能显著提高葡萄 DPPH 自由基清除能力, 其中蓝光 9h 的处理效果最好, 蓝光 6h 次之(图 3-5B); 在 90-100 DAF 时, 蓝光 3h 和蓝光 12h 对其 DPPH 自由基清除能力提高效果相同; 在 105 DAF 时, 蓝光 3h 和蓝光 6h 对其 DPPH 自由基清除能力提高效果相同且优于蓝光 12h。

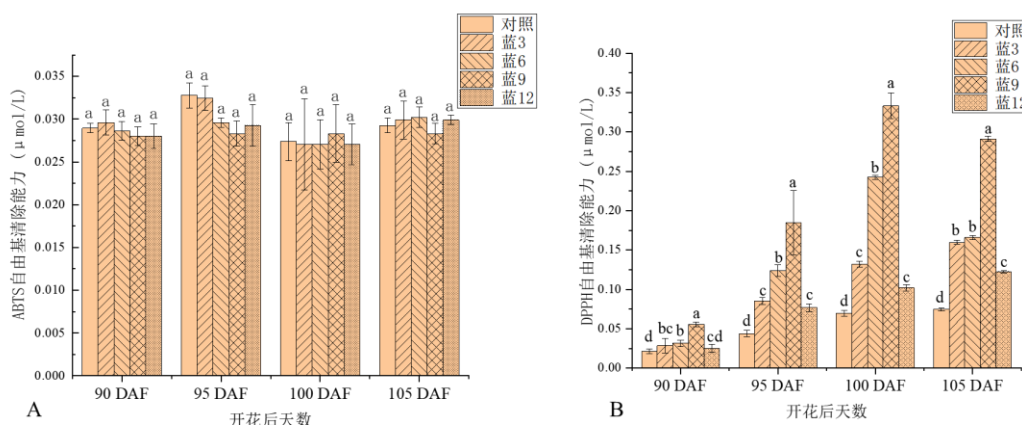


图 3-5 不同时长蓝光对巨峰葡萄 ABTS 自由基清除能力(A)、DPPH 自由基清除能力(B)的影响

Fig. 3-5 Effect of different duration of blue light on ABTS radical scavenging capacity (A) and DPPH radical scavenging capacity (B) of 'Kyoho' grapes

3.4 讨论

葡萄在中国南方地区因光照不足而使其功能成分和品质存在缺陷。夜间用 LED 光作为补充光源能改善葡萄光合作用和浆果成分与品质, 其中蓝光能改善光合作用以及果实的组成成分^[65]。有研究表明, 与正常光照条件相比, 补光处理显著改变了葡萄的基本特性, 包括降低了葡萄的有机酸含量, 同时增加总可溶性固形物、葡萄糖和果糖含量以及果皮的颜色, 且蓝光是最好的补光因子^[108]。蓝光不仅在葡萄果实发育过程中使其质量和纵径横径增大、果实糖含量的升高以及酸度的下降等方面有显著作用, 还能使葡萄果实更早成熟, 发育得更好^[77]。我们的研究发现补光时间的长短对葡萄的重量以及纵横径的作用不显著, 但对其糖酸

含量具有显著作用。这可能是补充不同的蓝光时长使 VvISA1、VvISA2、VvAMY1、VvCWINV、Vv β GLU12 和 VvFK12 等与淀粉和蔗糖代谢相关的基因上调，这些上调基因（VvCWINV）能催化蔗糖中的糖裂解成葡萄糖和果糖，从而促进可溶性糖和还原糖的积累^[109]。

光处理能显著影响植物体内氨基酸的含量。有研究表明，LED 光源处理能显著提高大麦中非必需氨基酸和总氨基酸的含量^[110]。光照条件的改变极大地影响了游离氨基酸的数量和比例。光强度的增加极大地诱导了总游离氨基酸含量，Pro、Met、Thr、鸟氨酸和胱硫醚对光表现出独特的反应^[111]。使用 LED 光源对成熟的绿色番茄果实进行黑暗、蓝光和红光处理，发现除 Glu 和 Asp 外，所有游离氨基酸在蓝光处理的水果中都比在黑暗和红光处理的水果中增加更多^[83]。我们的研究发现不同时间的蓝光处理在一定程度上能提高葡萄游离氨基酸的含量，这与 Dávid 等^[111]人的研究一致。此外，我们的研究还发现其蓝光 9h 能显著提高 Asp、Ser、Glu、Gly、Cys 和 Pro 的含量，这可能是蓝光照射过程中使参与氨基酸生物合成的基因（如：TAT、RAS 和 DAHPS）上调，进而促进游离氨基酸的积累^[112]。GABA 是一种非蛋白质氨基酸，具有健康有益的作用。蓝光处理能增加绿色番茄果实中 GABA 的含量^[83]。Zhang 等^[113]人通过光处理提高了糙米发芽过程中 Glu 和 GABA 的含量。Park 等^[114]人用 470nm 的单波长光处理发芽的大豆种子发现能显著提高其的游离氨基酸和 GABA 的含量。我们的研究与 Dhakal 等^[83]人的结果一致，这可能是 LED 光源能提高谷氨酸脱羧酶基因(GAD)的高表达，促进 GABA 的积累^[115]。

蓝光有利于葡萄花青素、原花青素和总多酚含量的积累，其积累不仅随光照质量的变化而变化，而且随培养时间的变化而变化^[98]。Song 等^[41]在转色期后通过补光处理能持续改善葡萄成熟度，同时葡萄皮中总酚、总单宁和总花青素的积累增加。我们的研究发现蓝光 9h 能显著提高葡萄果实总花青素、总多酚和总黄酮的含量，这一结果与 Song 等^[41]人的研究一致。导致这一结果的原因可能是夜间补光处理显著提高了花青素生物合成相关基因（PAL, CHS, DFR, GT, CFIP）表达上调^[116]，从而促进其含量的积累。葡萄浆果暴露在光照条件下通常会增加葡萄果实中花青素和黄酮醇的水平，主要是通过激活苯丙烷基因（VvPAL、Vv4CL）、类黄酮基因（VvCHS、VvCHI、VvF3'H、VvF3'5'H、VvUFGT）、黄酮醇基因（VvFLS）

和相关转录调节因子 (VvMYBA1、VvMYB5b、VvMYBF1、VvHY5) 的表达^[117], 这可能是补光处理能提高其总黄酮和总多酚的原因。

褪黑激素是一种色氨酸衍生物, 是葡萄浆果中的重要功能成分。Guo 等^[87]人发现暴露于光照条件下的葡萄果实合成的褪黑素含量其前体物质 (L-色氨酸、N-乙酰血清素、色胺和血清素) 含量显著下降, 这与我们研究的结果一致。补光能使褪黑素发生降解, 这可能是由于补光处理能下调与褪黑激素含量呈正相关的基因 (VvSNAT1、VvT5H) 的表达水平^[87]。

补光处理能影响果实的抗氧化能力, LED 补充光照条件下草莓总抗氧化能力高于自然光照处理, ABTS 含量表现出无显著交互作用, 而对草莓 DPPH 含量有显著交互作用^[86], 这与本文研究的结果一致。这可能是夜间不同时长的蓝光处理提高了 SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶活性, 从而使其抗氧化能力增强^[118]。

3.5 结论

在巨峰葡萄处于转色期时, 通过夜间不同蓝光时长的补光处理对葡萄果实的重量和纵横径以及 ABTS 自由基清除能力的影响不显著; 但能显著提高葡萄果实的花色苷、总多酚、总黄酮、GABA 和游离氨基酸等功能成分以及 DPPH 自由基清除能力; 显著提高葡萄可溶性固形物、还原糖的含量, 使其 pH 值和可滴定酸含量显著降低, 进而提高葡萄的综合品质, 其中蓝光 9h 的处理效果最好。

第 4 章 转录组学分析揭示补光处理诱导葡萄花色苷生物合成的机制

4.1 前言

花色苷主要存在于葡萄果皮中，其组成和浓度决定了葡萄果皮的颜色。花色苷的积累受环境信号（如光照，温度，盐度，氧气浓度等非生物胁迫）和植物激素(如 ABA, ETH, TAA, GA, CTK, BR)的诱导，受植物转录因子的调控^[119]。这些外部和内部因素可以调节花色苷生物合成过程中相关基因的表达来调控花色苷的积累，如苯丙氨酸解氨酶 (PAL)，查尔酮合成酶 (CHS)，查尔酮异构酶(CHI)，双氢黄酮醇 4-还原酶(DFR)，黄烷酮 3-羟化酶(F3H)和糖基转移酶(GT)^[121]。在环境因素中，光照对葡萄花色苷以及酚类物质的合成具有显著影响^[122]。葡萄的栽培模式有露地栽培和设施栽培。设施大棚栽培可以保护葡萄浆果免受许多疾病的侵害，但也会使葡萄受光照不足。与露天栽培相比，设施大棚栽培会降低葡萄果实中花色苷等大多数酚类化合物的合成^[60]。在设施大棚内采用人工补光的方法可以很好的提高葡萄果皮中的花色苷含量，使葡萄果皮呈色均匀。

近年来，通过 LED 补光处理来调控花色苷的合成已经被广泛应用于各种植物中。Zhang 等^[123]采用 LED 研究了红光和蓝光对草莓着色的影响，发现蓝光可以快速刺激果实中花青素的积累，红光对原花色苷的合成具有促进作用。红蓝混合光(RBL)处理和紫外光(UV-B)照射下草莓果实中的黄酮类化合物和花青素含量分别显著升高，且 UV-B 处理的效果最好^[124]。补充蓝光能提高生菜中花色苷的含量，RBL 最适合对生菜进行栽培^[125]。RBL 处理对葡萄花青素和糖的积累最有利，BL 处理的葡萄挥发性化合物含量最高^[126]。在葡萄储存过程中，红光处理使花青素生物合成相关酶的水平高于绿光、蓝光处理^[127]。蓝光是最有利于葡萄愈伤组织总酚类物质积累的处理。白光、蓝光和紫光诱导花青素积累增加。混合波长的光有利于类黄酮的积累^[98]。

目前，夜间延时补光的方法在生菜，西红柿，葡萄，辣椒等物种中已经进行了一些研究^[128]。夜间进行补光处理可以增加生菜的抗氧化能力以及花青素、类

胡萝卜素和总酚类物质等植物营养素的浓度^[128]。在夜间，通过补光处理葡萄幼苗，发现蓝光仍然是对成熟葡萄花色苷含量提高的较好的光源^[69]。然而，在设施大棚下，葡萄处于转色期时，对其进行夜间补光处理的研究还鲜有报道。因此，本文在葡萄转色过程中对其进行夜间补光处理，并进行了转录组分析，以表征补光照射下葡萄果皮中参与花青素积累的潜在转录本。这些发现能提高我们对夜间补光调控葡萄花青素生物合成的分子机制的认识。

4.2 材料与仪器

4.2.1 实验样品

转录组测序样品：选取第二章中 95 DAF 时的对照(ND)、白光(W)、蓝光(B)处理的葡萄样品；选取第三章中 95 DAF 时的对照(CK)、蓝光 3 h (B3)、蓝光 9 h (B9)处理的葡萄样品。

4.2.2 实验试剂

RNA 分离试剂盒 (安捷伦)；SYBR 预混合荧光染料试剂盒，南京诺唯赞生物股份有限公司；1% 琼脂糖凝胶，sigma aldrich 贸易有限公司。

4.2.3 实验器材

表 4-1 实验设备

Table 4-1 Experimental equipment

设备名称	型号	厂家
测序仪	Hiseq 4000	美国 Illumina 公司
生物分析仪	Agilent 2100	美国安捷伦生物科技有限公司
荧光定量 PCR 仪	Cycler 480	罗氏生物科技有限公司

4.3 实验方法

4.3.1 总 RNA 提取和 cDNA 文库构建

总 RNA 提取采用 Agilent RNA Isolation Kit，通过 Agilent 2100 生物分析仪评估 RNA 质量，并使用紫外分光光度计和 1%琼脂糖凝胶检测。以及通过 Oligo(dT)磁珠富集总 RNA 中带有 polyA 结构的 mRNA，采用离子打断的方式，将 mRNA 分解成短片段。以 mRNA 为模板，用 6 碱基随机引物和逆转录酶合成

cDNA。文库构建完成后,采用 PCR 扩增进行文库片段富集,通过 Agilent 2100 Bioanalyzer 对文库进行质检,再对文库总浓度及文库有效浓度进行检测。

4.3.2 转录组测序和数据质量控制

基于 Illumina 测序平台,对这些文库进行双末端(Paired-end, PE)测序。在测序获得的原始数据中,包含一些带接头、低质量的 Reads 需要去除,采用 Fastp 去除 3'端带接头的序列,去除平均质量分数低于碱基识别准确率在 99%以上的碱基(Q20)的 Reads,原始数据经过过滤、测序错误率和 GC 含量分布检查,得到后续分析的干净数据。然后,使用 HISAT 软件将过滤后的 Reads 比对到参考基因组上,参考基因组为 *Vitis_vinifera.12X.dna.toplevel.fa*。

4.3.3 差异表达基因(DEG)分析和功能注释

为了探讨不同光源以及光照时间对葡萄果皮花色苷的变化,我们对基因表达水平的评估采用了 FPKM 方法,我们一般认为 FPKM>1 的基因是表达的。基因表达定量完成后,采用假设检验概率(P-value)校正表达量,满足 $|\log_2\text{FoldChange}|>1$ 和 $P\text{-value}<0.05$ 的基因被定义为差异表达基因(DEGs)。使用 R 语言 Pheatmap 软件包对所有比较组的差异基因的并集和样品进行双向聚类分析,根据层次聚类的结果,将差异基因按照表达模式的不同,划分到不同的组,同一个组中的基因表达趋势相近,并进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。将每一个处理当作一个基因组,进行 GSEA 富集分析。转录因子(TFs)的预测是将植物与植物转录因子数据库 Plant TFDB 比较,从而预测得到 TFs 以及 TFs 所属的家族信息。

4.3.4 实时荧光定量 PCR 测定(qRT-PCR)

为了验证从转录组测序中获得的结果,我们选择了 6 个与花色苷生物合成相关的基因进行了 qRT-PCR 分析。特异性引物序列见表 4-2。采用荧光 PCR 系统和 SYBR 预混合荧光染料试剂盒进行实时荧光 PCR 反应 40 个循环。反应混合物包括 8.2 μL 不含 RNase 的 dH₂O、0.8 μL 引物(10 $\mu\text{mol/L}$)、1 μL cDNA 和 10 μL 2 $\times$ SYBR 预混合荧光染料试剂混合,实验采用 3 个生物重复,以 Actin 作为内对照,并采用 $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ 法对每个基因进行数据分析。

表 4-2 特异性引物序列

Table 4-2 Specific primer sequences

引物名称	序列(5'to3')
VIT_13s0019g04460-F	AGAGCAACACAACCAAGAT
VIT_13s0019g04460-R	AATATGTCCACGGCTTCAG
VIT_06s0004g02620-F	GGTATGCTCTTAGGACTTC
VIT_06s0004g02620-R	TCTATGGACTTCGTTGATG
VIT_04s0079g00690-F	TGATGTGTATGAGCAGAG
VIT_04s0079g00690-R	CTTCCTTCACCAAGTATCT
VIT_14s0068g00930-F	CGTTCTGAGCGAGTATGG
VIT_14s0068g00930-R	TGCCTTTCCCTTCTTCAAT
VIT_04s0023g03370-F	ATGGGAGGTTCAAGAATG
VIT_04s0023g03370-R	TTGGAATGTTGCTATGGA
VIT_02s0033g00390-F	GGTTGAATAGATGCCTAA
VIT_02s0033g00390-R	ATTGTGAAGCCTAATCAT
actin(nei)-F	GACTACCTACAACCTCCATCA
actin(nei)-R	CCACCACTAAGCACAATG

4.4 结果与分析

4.4.1 转录组数据分析和 DEGs 分析

为了探究在转色期通过不同光质和不同光照时长处理对葡萄果皮花色苷合成的调控机制,采用 mRNA 测序方法分析了其 DEGs。由表 4-3 可知,在不同光质组中有 9 个测序样本,每个样本平均产生 42978562 个纯净序列,其在测序序列中平均占 98%。碱基质量值超过 30 的碱基数目与总碱基数的比值(Q30 值)分布在 94.45%~95.61%之间。将纯净序列定位到指定的葡萄参考基因组,筛选出在参考基因组中只有一个位置的纯净序列(唯一序列)有 37485798 个,这些测序样品的唯一序列平均定位率为 95.71%。在不同时长组中,每个样本平均产生 44286377.56 个纯净序列,其在测序序列中平均占 98.04%。Q30 值分布在 94.68%~95.55%之间。唯一序列有 38717488.89 个,这些测序样品的唯一序列平均定位率为 95.70%,这表明所选择的参考基因组的结果是可靠的,足以进行后续分析。

表 4-3 转录组数据比对结果

Table 4-3 Results of Transcriptome Data Comparison

样本	纯净序列数	纯净序列%	Q30(%)	唯一序列总数	唯一序列比率%
B_1	43488030	97.96	94.83	37994183	95.24
B_2	45410030	97.89	94.79	39698777	95.70
B_3	38880602	97.60	94.97	33550985	95.31
ND_1	39121628	98.16	95.23	34567563	96.31
ND_2	40405514	98.04	95.20	35694022	96.39
ND_3	44996510	98.25	95.61	39146229	95.53
W_1	43271772	98.14	95.17	37838834	96.00
W_2	46294204	98.28	95.61	40123355	95.81
W_3	44938768	97.64	94.45	38758238	95.1
B3_1	45138092	98.08	95.23	39650742	95.82
B3_2	44586800	97.93	95.02	38900319	95.71
B3_3	41103084	98.03	95.02	35997771	95.67
B9_1	44198928	98.03	95.05	38695711	95.59
B9_2	40908384	97.94	94.90	35597812	95.63
B9_3	45087376	98.19	95.29	39374330	96.07
CK_1	45151360	98.24	95.38	39202137	95.63
CK_2	48469156	97.51	94.68	42610111	95.78
CK_3	43934218	98.38	95.55	38428467	95.41

在不同光质组(N/W、N/B 和 W/B)中,由图 4-1 A 可知,我们共筛选到 770、698 和 427 个 DEGs,其中上调基因有 247、264 和 145 个,下调基因 532、434 和 282 个;由图 4-1 B 可知,在筛选到的 DEGs 中含有共同 DEGs (Co-DEGs) 9 个,在 N/B vs N/W 比较组中含有 Co-DEGs 271 个,在 N/B vs W/B 比较组中含有 110 个 Co-DEGs,在 N/W vs W/B 的比较组中含有 96 个 Co-DEGs。我们对 N、W 和 B 三组的 DEGs 进行聚类分析,由图 4-1 C 可知,三组处理之间 DEGs 存在较大

差异，且每个组的组内差异较小，能很好的被聚类在一起。由图 4-2 A 可知，这些被聚类的 DEGs 按照表达模式的不同，一共被分成 9 个组别补光处理在组别 1 至 5 中转录下调，但在组别 6、7 和 9 中的结果相反，这表明它们可能在与葡萄果皮相关的代谢调节中起作用。

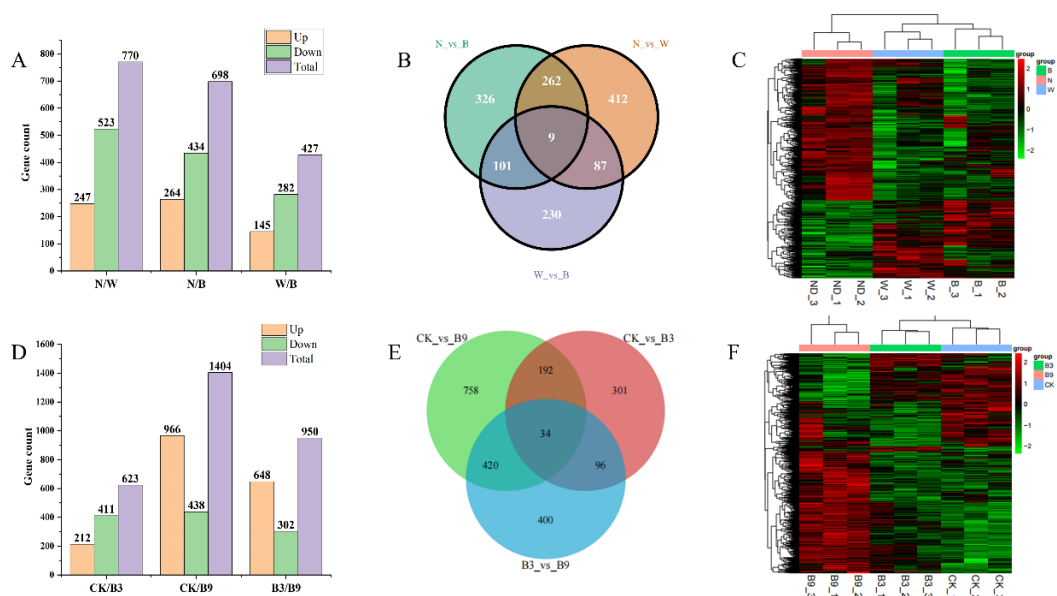
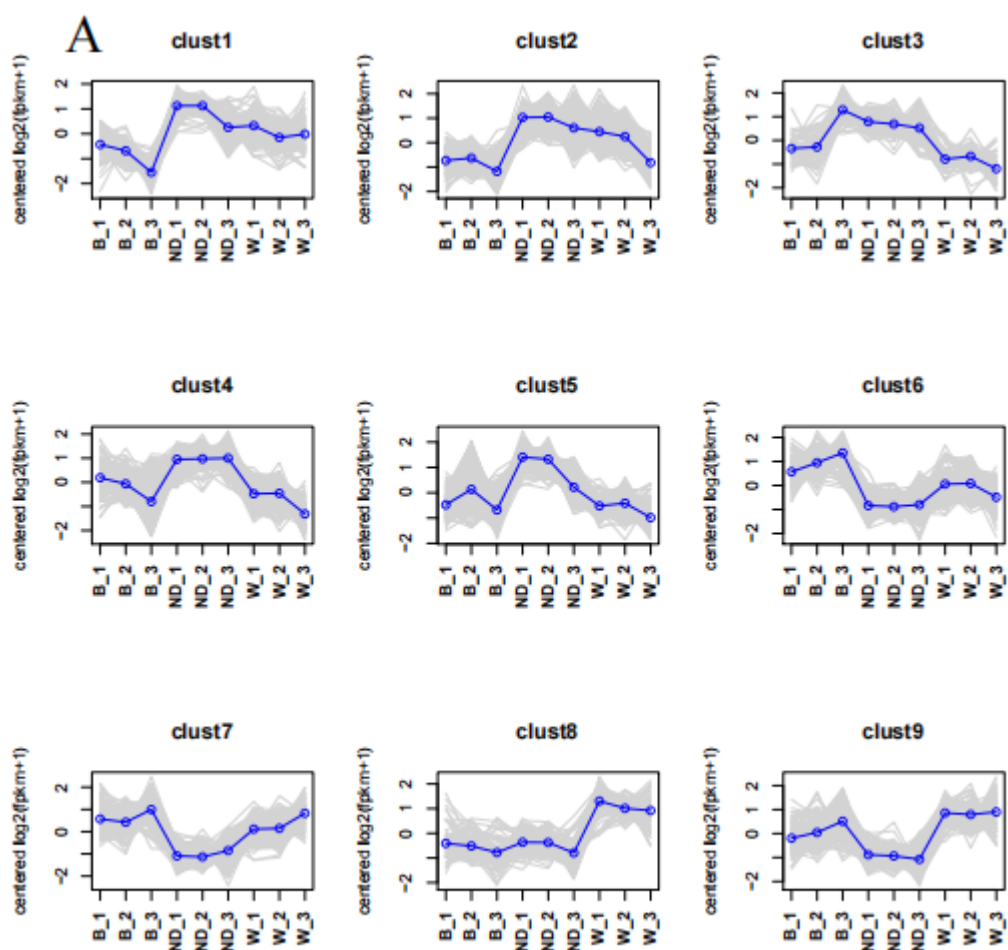


图 4-1 不同处理下差异表达基因 (DEGs) 数量的统计结果和聚类分析。(A) 不同光照质量处理组 DEGs 统计结果柱状图；粉红色代表上调，绿色代表下调，紫色代表 DEGs 总数；(B) 不同光照质量处理组 DEGs 统计结果维恩图；(C) 不同光照质量处理组 DEGs 聚类热图；根据 RPKM 值进行聚类，红色代表高表达基因，绿色代表低表达基因。(D) 不同光照时间处理组 DEGs 统计结果柱状图；(E) 不同光照时间处理组 DEGs 统计结果维恩图；(F) 不同光照时间处理组 DEGs 聚类热图。

Figure 4-1 Statistical results and cluster analysis of the number of differentially expressed genes (DEGs) under different treatments. (A) Histogram of statistical results of DEGs in different light quality treatment groups; pink represents up-regulation, green represents down-regulation, and purple represents the total number of DEGs; (B) Venn diagram of statistical results of DEGs in different light quality treatment groups; (C) Heatmap of clustering of DEGs in different light quality treatment groups; clustering was performed according to the RPKM value, and red represents highly expressed genes, and green represents lowly expressed genes. (D) Histogram of statistical results of DEGs in different light time groups; (E) Venn diagram of

statistical results of DEGs in different light quality treatment groups; (F) Heat map of DEGs clustering in different light quality treatment groups.



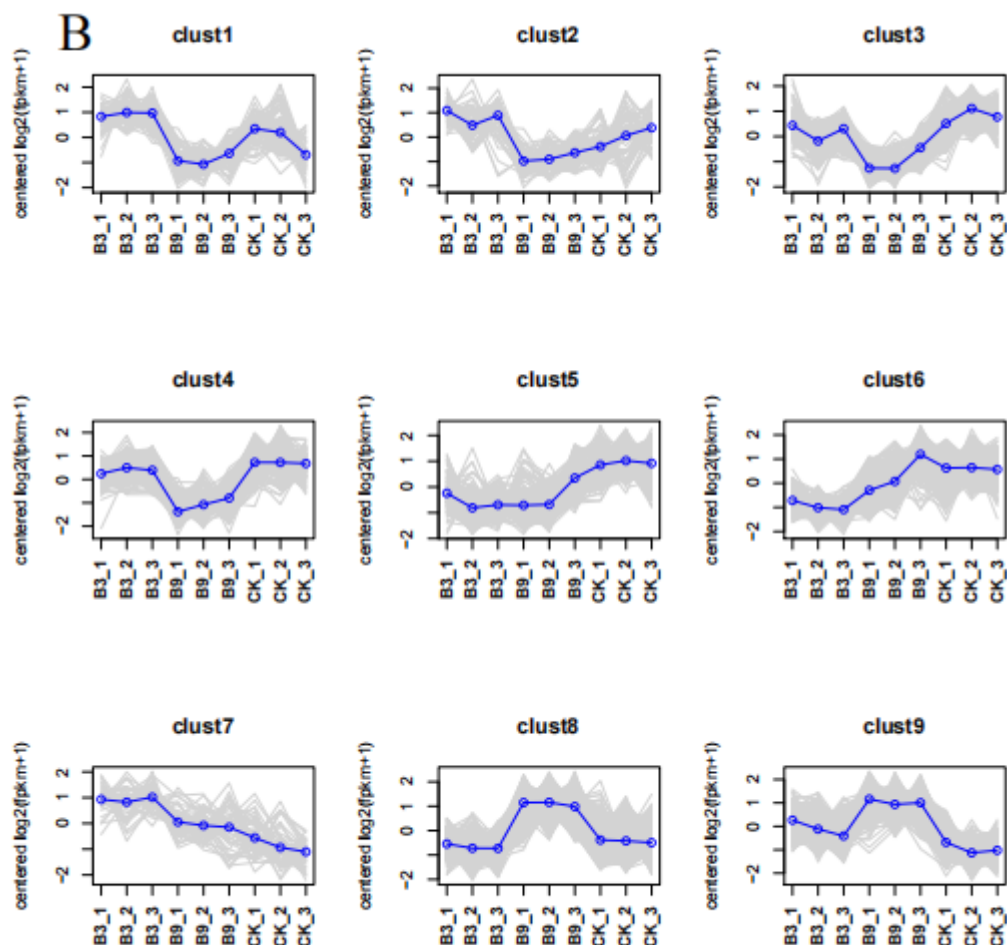


图 4-2 不同光质(A)和不同时长(B)的差异表达基因的分布趋势图

Fig. 4-2 Trends in the distribution of differentially expressed genes in different light qualities (A) and different durations (B)

在不同时长组中(CK/B3、CK/B9、和 B3/B9)中,由图 4-1 D 可知,我们共筛选到 623、1404 和 950 个 DEGs,其中上调基因有 212、966 和 648 个,下调基因 411、438 和 302 个,其中含有 34 个 Co-DEGs。由图 4-1 E 可知,在 CK/B3 vs CK/B9 比较组中含有 Co-DEGs 226 个,在 CK/B3 vs B3/B9 比较组中含有 130 个 Co-DEGs,在 CK/B9 vs B3/B9 比较组中含有 454 个 Co-DEGs。由图 4-1 F 可知,我们对 CK、B3 和 B9 三组的 DEGs 比较分析发现存在较大差异,且组内差异较小,聚类效果良好。由图 4-2 B 可知,DEGs 被同样被分为 9 个组别, B3 和 B9 处理在组别 9 中转录上调,在组别 4 中表现出相反的结果。

4.4.2 GO 功能注释分析和 KEGG 通路富集分析

4.4.2.1 不同光质处理下的 GO 和 KEGG 分析

由图 4-3 A 可知, 通过 GO 数据库对 N/W、N/B 和 W/B 中的 DEGs 进行功能注释, 结果发现差异表达的功能类别分别为 264、241 和 235 (P 值 <0.05), 包括生物过程 (BP)、分子功能 (MF) 和细胞组分 (CC)。我们分别对 BP、MF 和 CC 中排名前 10 的功能条目进行了筛选。在 N/W 中, GO 功能注释主要富集在细胞外区域 (GO:0005576)、铁离子结合 (GO:0005506) 和氧化还原过程 (GO:0055114) 等条目上。由图 4-3 B 可知, GO 富集的通路主要与多酮代谢过程 (GO:0030638)、多酮生物合成过程 (GO:0030639)、三羟基二苯乙烯合成酶活性 (GO:0050350)、次生代谢物生物合成过程 (GO:0044550) 以及 N/B 中的其他通路有关。由图 4-3 C 可知, 花色苷是次生代谢产物, 是代谢途径的重要组成部分。在 W/B 中, GO 途径主要涉及对过氧化氢的反应 (GO:0042542)、寡聚化蛋白质复合物 (GO:0051259)、蛋白质自我结合 (GO:0043621) 和对活性氧的反应 (GO:0000302) 等条目。将这些 DEGs 用于 KEGG 通路富集分析, 发现在 N/W 和 N/B 中, 黄酮生物合成(vvi00941), 黄酮和黄酮醇生物合成(vvi00944), 苯丙氨酸代谢(vvi00360), 苯丙酮生物合成(vvi00940)均显著富集, 这些通路均与花青素的生物合成紧密相关。此外, 由图 4D 可知, 在 N/W 中, 植物与病原体的相互作用 (vvi04626), 光合作用--触角蛋白 (vvi00196) 和花青素的生物合成 (vvi00942) 等代谢通路也富集显著。这些通路分别对葡萄的发育成熟, 光响应, 以及花色苷积累具有重要作用。花青素可以保护植物免受胁迫, 促进植物与病原体的相互作用这一通路显著表达。由图 4-3 E 可知, 在 N/B 中, 二苯乙烯类、二芳基庚烷类和姜酚的生物合成 (vvi00945), 氨基酸和核苷酸糖代谢 (vvi00520) 等代谢通路富集显著。由图 4-3 F 可知, 在 W/B 中内质网中的蛋白质加工 (vvi04141), 二萜生物合成 (vvi00904), 植物激素信号转导 (vvi04075) 等代谢通路显著富集。

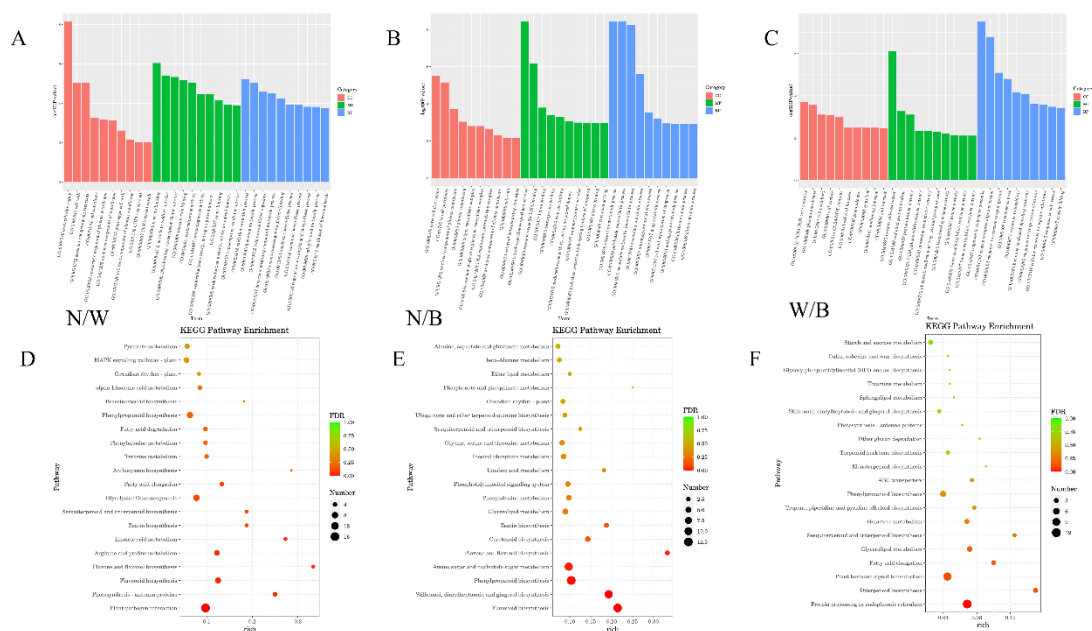


图 4-3 不同光质处理下的 GO 和 KEGG 分析图。(A-C) 分别显示了 N/W、N/B 和 W/B 的 GO 富集分析柱图。我们分别筛选了 CC、MF 和 BP 中的前 10 个术语来显示它们。红色代表 CC, 绿色代表 MF, 蓝色代表 BP。横坐标为 GO 富集术语, 纵坐标为 $-\log_{10}(P)$ 值)。(D-F) 分别为 N/W、N/B 和 W/B 的 KEGG 气泡图。富集因子越大, 富集程度越高。FDR 越接近零, 颜色越红, 表示富集程度越显著。圆圈的大小代表基因的数量。选取 FDR 值最小的前 20 条 KEGG 通路进行展示。

Fig. 4-3 GO and KEGG analysis under DL treatments. (A–C) show the column graphs of GO enrichment analysis for N/W, N/B, and W/B, respectively. We filtered the top 10 terms in CC, MF, and BP, respectively, to show them. The red represents CC, the green represents MF, and the blue represents BP. The horizontal coordinates are GO enriched Terms, and the vertical coordinates are $-\log_{10}(p\text{-value})$. (D–F) KEGG bubble plots for N/W, N/B, and W/B, respectively. The larger the rich factor, the greater the degree of enrichment. The closer the FDR is to zero, the redder the color becomes, indicating a more significant enrichment. The size of the circle represents the number of genes. The top 20 KEGG pathways with the smallest FDR values were selected for display.

4.4.2.2 不同时长处理下的 GO 和 KEGG 分析

通过对 CK/B3、CK/B9 和 B3/B9 中的 DEGs 进行 GO 功能富集分析, 发现差异表达的功能类别分别为 287、359 和 325 个 (P 值 < 0.05), 由图 4-4 A 可知, 在 CK/B3 中, GO 条目主要富集在 DNA 结合转录因子活性 (GO:0003700)、转

录调节因子活性 (GO:0140110)、细胞大分子生物合成过程调节 (GO:2000112) 等条目中。由图 4-4 B 可知, 在 CK/B9 中, GOterms 主要富集在 ADP 结合 (GO:0043531)、蛋白质结合 (GO:0005515)、光系统 I (GO:0009522 等条目中。由图 4-4 C 可知, 在 B3/B9 中, GO 条目主要富集在蛋白质自我结合 (GO:0043621)、RNA 修饰 (GO:0009451)、蛋白质复合物寡聚化 (GO:0051259) 等条目中。通过 KEGG 数据库对三个比较组进行通路富集分析, 由图 4-4 D 可知, 在 CK/B3 中, 植物-病原体相互作用 (vvi04626), 植物激素信号转导 (vvi04075), 光合作用-触角蛋白 (vvi00196), 玉米素生物合成 (vvi00908), 苯丙氨酸代谢 (vvi00360), 二萜生物合成 (vvi00904), 苯丙酮生物合成 (vvi00940) 等代谢通路显著富集。由图 4-4 E 可知, 在 CK/B9 中, 光合作用-天线蛋白 (vvi00196), 光合作用 (vvi00195), 类黄酮生物合成 (vvi00941) 内质网中的蛋白质加工 (vvi04141) 等代谢通路显著富集。由图 4-4 F 可知, 在 B3/B9 中, 内质网中的蛋白质加工 (vvi04141), 光合作用 (vvi00195), 光合作用--触角蛋白 (vvi00196), 植物激素信号转导 (vvi04075), 类黄酮生物合成 (vvi00941), 苯丙素生物合成 (vvi00940) 和花青素生物合成 (vvi00942) 等代谢通路显著富集。这些通路也在葡萄的光响应和花色苷积累方面具有关键作用。

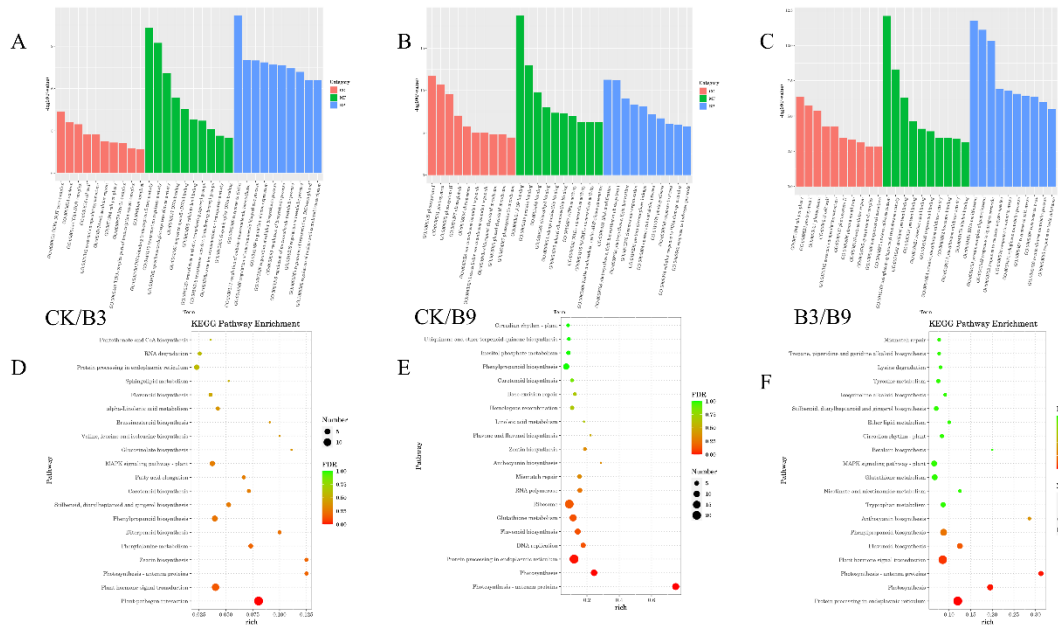


图 4-4 不同时长处理下的 GO 和 KEGG 分析。(A-C) 分别为 CK/B3、CK/B9 和 B3/B9GO 富集分析柱图。(D-F) 分别为 CK/B3、CK/B9 和 B3/B9 的 KEGG 气泡图

Fig. 4-4 GO and KEGG analysis under different time-length treatments. (A-C) Bar graphs of CK/B3, CK/B9 and B3/B9 GO enrichment analysis, respectively. (D-F) KEGG bubble plots of CK/B3, CK/B9 and B3/B9, respectively.

4.4.3 GSEA 富集分析

我们通过对各个组别的 GSEA 富集分析,并在结果中筛选了 top20 的相关途径。由图 4-5 可知,我们发现类黄酮生物合成(vvi00941)在不同光质组 and 不同光照时长组中均有显著差异。在不同光质组中,根据核心富集信息,发现有 11 个基因在类黄酮生物合成途径中均显著表达,且此通路被激活。在不同光照时长组中,有 7 个基因在此途径均显著表达。此外,除了 W/B 和 CK/B9 两组外,其他组的基因集在苯丙酮生物合成(vvi00940)途径中也有显著差异。有趣的是,只有在 B3/B9 中,苯丙酮生物合成(vvi00940)途径被激活,其他组中均被抑制。

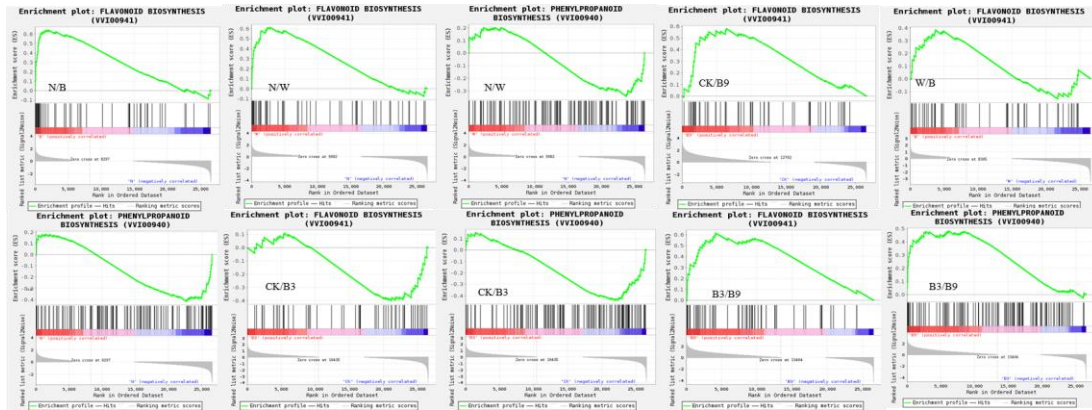


图 4-5 在各比较组的 GSEA 富集分析结果图

Fig. 4-5 Plot of the results of GSEA enrichment analysis in each comparison group

4.4.4 转录因子(TFs)分析

参与花色苷的生物合成的结构基因会受到转录因子的调控,通过光处理的方式也会使光信号和花色苷生物合成相关的 TF 有显著差异表达。在我们的研究中,在 N/W 和 N/B 组中分别有 200 (54 个上调, 146 个下调)和 183 (66 个上调, 117 个下调)个 DEGs 被认定为 TF, 分为 37 和 38 个转录因子家族。由图 7 可知,我们筛选了 top 19 的转录因子家族,发现主要有 ERF, bHLH, NAC, WRKY, MYB 和 MYB-related 等转录因子家族(Fig. 7A; Fig. 7B), 这些转录因子家族在 N/W 组中分别有 29(4 上调, 25 下调), 22(9 上调, 13 下调), 17(3 上调, 14 下调), 17((2 上调, 15 下调), 7(4 上调, 3 下调)和 13(3 上调, 10 下调)个 DEGs; 在 N/B 组中分别有 18(3 上调, 15 下调), 21(7 上调, 14 下调), 15(7 上调, 8 下调), 11(2 上

调,9 下调), 13(9 上调, 4 下调)和 11(2 上调, 9 下调)个 DEGs。在 B3/B9 组中, 有 257 (163 个上调, 94 个下调) DEGs 被识别为 TF, 分为 43 个转录因子家族, 由图 7C 可知, 主要含有 bHLH, ERF, NAC, MYB, C2H2 和 MYB-related 等转录因子家族, 这些转录因子家族分别有 30(13 上调, 17 下调), 26(15 上调, 11 下调), 25(20 上调, 5 下调), 24(19 上调, 5 下调), 19(8 上调, 11 下调), 13(10 上调, 3 下调)个 DEGs。

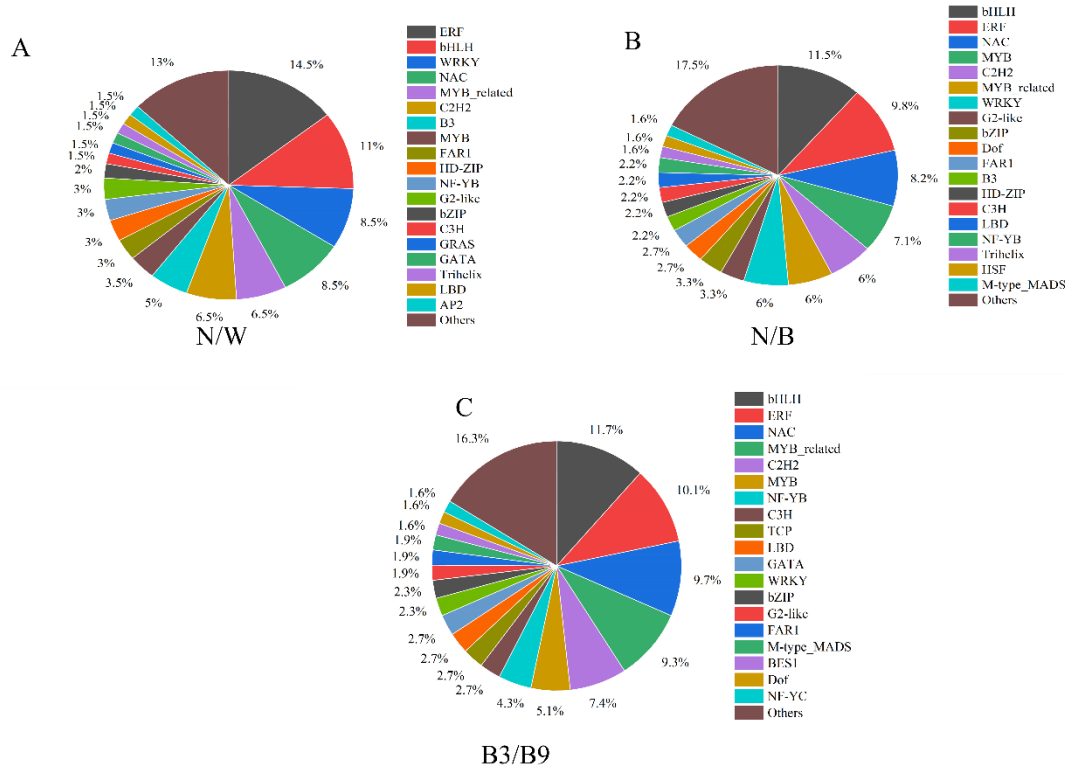


图 4-6 葡萄皮中转录因子的比例和类型 (A) N/W; (B) N/B; (C) B3/B9

Fig. 4-6 The proportion and type of transcription factors in grape skins. (A) N/W, (B) N/B, (C)

B3/B9

4.4.5 相关差异基因的 qRT-PCR 验证

为了进一步验证 RNA-seq 结果并研究 DEGs 的表达模式, 我们分别在不同光质组和不同时长组中筛选了与花色苷生物合成相关的 6 个基因 (VIT_02s0033g00390, VIT_04s0023g03370, VIT_04s0079g00690, VIT_06s0004g02620, VIT_13s0019g04460, VIT_14s0068g00930)进行了 qRT-PCR 验证。由图 4-7 可知, 这些基因的 FPKM 值与其相关基因表达水平基本一致。这表明 RNA-seq 结果的可靠性, 鉴定的 DEGs 可用于进一步分析。

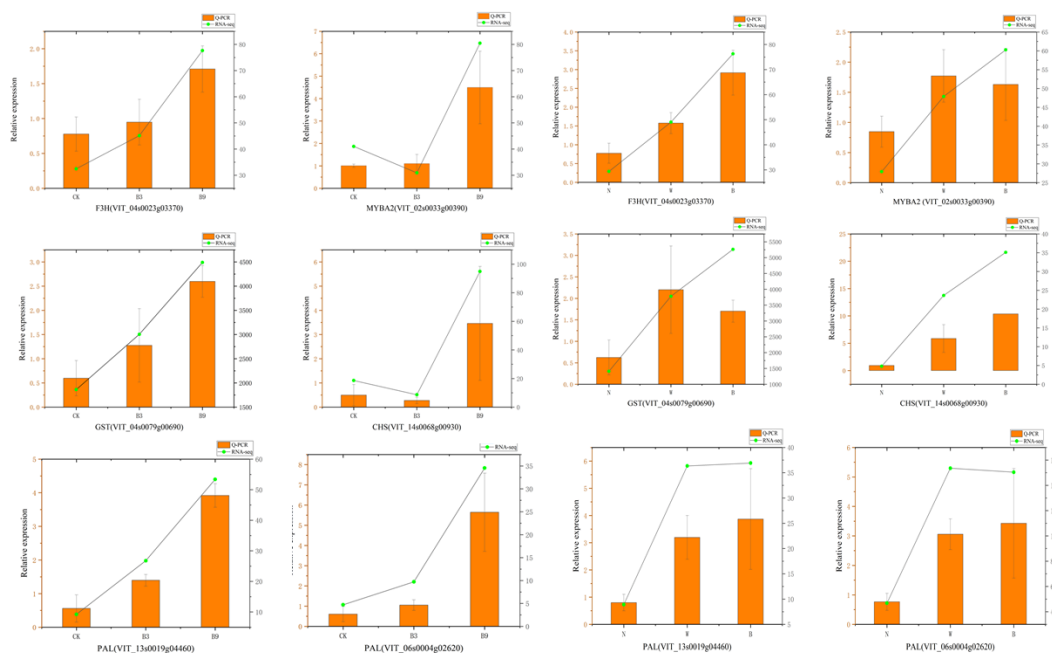


图 4-7 Q-PCR 验证差异表达基因

Figure 4-7 Q-PCR verification of differentially expressed genes

4.5 讨论

花色苷的产生受光照、低温、干旱和盐度等多种环境因素的影响。光是诱导植物花青素积累的一个特别重要的环境因素,能诱导植物花青素生物合成的调控途径^[130]。然而,补光促进 ‘Kyoho’葡萄果皮花色苷的积累在具体基因表达机制上还没有得到很好的解释。在本研究中,我们对 ‘Kyoho’浆果进行了补光处理,并通过转录组分析鉴定了差异表达基因。我们的研究结果分别在 DL 处理下和 DT 处理下识别出了 1000 多个和 2000 多个 DEGs,这表明光诱导葡萄果皮中更多的基因表达,这可能是葡萄果皮花色苷积累的原因。花色苷生物合成主要分为三个阶段: 1) 苯丙烷生物合成途径; 2) 类黄酮生物合成途径; 3) 花色苷合成途径。通过 GO, KEGG 和 GSEA 富集分析表明,与类黄酮生物合成,黄酮和黄酮醇的生物合成,苯丙氨酸代谢,苯丙类化合物的生物合成和花青素的生物合成相关的 DEGs 是花色苷积累的原因。此外,转录因子,例如 ERF、bHLH、NAC、WRKY、MYB 和 MYB-related 也会对花色苷的生物合成产生影响。下面将讨论这些调控花色苷积累的途径和 TFs。

4.5.1 苯丙酮生物合成与苯丙氨酸代谢

苯丙酮生物合成由 PAL、C4H 和 4CL 催化, PAL 催化肉桂酸的生物合成,

并为其他苯丙素和酚类化合物提供初始底物,并且其在控制花青素和其他酚类化合物的生物合成中具有关键作用^[131]。苯丙氨酸代谢的增加也是花色苷积累的原因之一^[133]。在红色葡萄果实和皮肤中,酚类化合物的积累通过活性苯丙酮途径在转录水平上广泛促进^[131]。图 4-8 的结果表明,在苯丙酮生物合成途径中, PAL(VIT_06s0004g02620、VIT_13s0019g04460)上调, PAL(VIT_08s0040g01710)显著下调;过氧化物酶(VIT_07s0191g00050、VIT_06s0004g01180、VIT_07s0191g00050、VIT_02s0012g00540、VIT_01s0010g00960)显著上调,过氧化物(VIT_07s0129g00360、VIT_18s0001g06840、VIT_14s0066g01850、VIT_02s0012g00540、VIT_08s0058g00990、VIT_06s0004g07770、VIT_08s0058g00970、VIT_18s0001g01140)显著下调;有趣的是,过氧化物酶(VIT_02s0012g00540)在 N/B 中下调,但在 B3/B9 中上调;未知 DEGs(VIT_11s0037g00570)也在 B3/B9 中上调,在 CK/B3 中下调。这说明 PAL 和过氧化物酶的差异表达有利于苯丙酮生物合成途径的富集,促进葡萄果皮花色苷的积累。有研究表明高温可以刺激过氧化物酶活性,从而降低成熟葡萄浆果中的花青素^[134]。红光处理能提高 SOD 和 POD 的活性,且抗氧化酶的活性与花色苷呈负相关^[135]。过氧化物酶(VIT_02s0012g00540)和未知 DEGs(VIT_11s0037g00570)可能在不同时长的蓝光处理下抑制了过氧化物酶的活性,使葡萄果皮花色苷增加。PAL(VIT_08s0040g01710)仅在蓝光处理时下调,这可能是蓝光对该基因具有特异性调节作用。PAL(VIT_06s0004g02620、VIT_13s0019g04460、VIT_08s0040g01710)还参与苯丙氨酸代谢、天冬氨酸氨基转移酶(VIT_08s0058g01000)和胺氧化酶(VIT_05s0020g03310)在此途径中下调。此外,我们还发现了参与苯丙酮的生物合成途径的未知 DEGs(VIT_06s0004g08150、VIT_11s0037g00570、VIT_04s0044g00190、VIT_10s0003g05420、VIT_09s0018g01190、VIT_02s0025g02920、VIT_11s0052g01090、VIT_03s0063g00140、VIT_04s0023g02900、VIT_03s0038g02030)。这些 DEGs 可能也是导致该途径富集显著的原因之一。

4.5.2 类黄酮、黄酮和黄酮醇的生物合成

补光处理能使草莓果实中类黄酮的生物合成途径显著富集,使黄酮和花色苷积累^[124]。与白葡萄品种的葡萄皮相比,与苯丙酮、类黄酮途径相关的大多数 DEGs

在红葡萄皮中优先表达^[136]。由图 4-8 可知, 在类黄酮的生物合成途径中, 查耳酮-黄酮异构酶家族蛋白(CFIP: VIT_13s0067g03820、VIT_13s0067g02870), 双氢黄酮醇还原酶(DFR:VIT_18s0001g12800)在蓝光处理下显著上调, 在白光处理下无显著差异; 查耳酮合成酶(CHS: VIT_05s0136g00260、VIT_14s0068g00930)在蓝光和白光处理下均显著上调。DFR 催化二氢类黄酮生物合成花青素, 是植物花青素生物合成的关键调节酶, 且该酶的表达与花色苷含量呈正相关^[137]。不同光照条件下的辣椒果实花青素的合成与 CHS、DFR、CHI 的基因参与有关^[139]。我们的研究发现蓝光可以通过 CFIP、DFR 和 CHS 来促进花色苷的积累, 而白光只能通过 CHS 来调节花色苷含量。未知 DEGs(VIT_09s0018g01190、VIT_11s0037g00570)仅在 B3/B9 中上调, 这可能是不同时间的蓝光处理使类黄酮生物合成途径富集, 促进葡萄果皮花色苷含量增加的原因之一。黄酮和黄酮醇的生物合成与植物的颜色紧密相关, 还对调节植物生长发育和抗各种胁迫起重要作用^[140]。黄酮醇作为花色苷的前体物质可以转化为花色苷^[141]。蓝光和白光处理下, 未知 DEGs(VIT_06s0009g02970、VIT_06s0009g02860、VIT_06s0009g02840)不仅在黄酮和黄酮醇的生物合成途径中显著上调, 还在类黄酮的生物合成中上调。VIT_14s0068g00920 和 VIT_06s0009g02860 更是在 N/W、N/B、CK/B9 和 B3/B9 中均上调。这些 DEGs 会随着 DL 和 DT 的处理通过黄酮和黄酮醇的生物合成引起花色苷的积累。增加光照强度会提高黄酮醇和花色苷的含量, 但过高的光照强度会减少黄酮和原花青素的积累^[142]。

4.5.3 花色苷的生物合成

花色苷的生物合成是通过 ANS 的作用下将无色花色苷转化为有色花色苷, 这一过程还需要很多酶(GT, BZ1, 3AL 等)的参与, GT 对多种花青素和黄酮醇以及酚酸具有一定的活性, 其表达会促进红樱桃果实成熟过程中花青素的积累^[143]。GT1 可以通过调控 ANS 的活性来促进玉米花色苷的表达^[144]。光处理增加了花青素的积累, 通过 GT 的上调表达来正向调控光诱导的花青素生物合成^[145]。我们的研究与 Wang 等^[140]人的研究一致。GT(VIT_11s0052g01630、VIT_16s0039g02230、VIT_11s0052g01600)在黄酮和黄酮醇的生物合成途径中高度表达, GT(VIT_11s0052g01630)在 N/W 和 B3/B9 中均显著上调, GT(VIT_16s0039g02230、VIT_11s0052g01600)分别在 N/W 和 B3/B9 中显著表达

(图 4-8)。这表明补光处理能通过诱导 GT(VIT_11s0052g01630)的表达使花色苷生物合成途径显著富集,提高葡萄果皮花色苷的积累。白光和蓝光的花色苷含量的差异可能与 GT(VIT_16s0039g02230、VIT_11s0052g01600)的选择性表达有关。GT、CHI 和光合作用-天线蛋白的表达水平与大多数类黄酮化合物的浓度高度相关^[146]。UV-B 处理能显著诱导 GT 的表达,促进杨梅中单体花青素发生糖基化形成黄酮类葡萄糖苷^[147]。

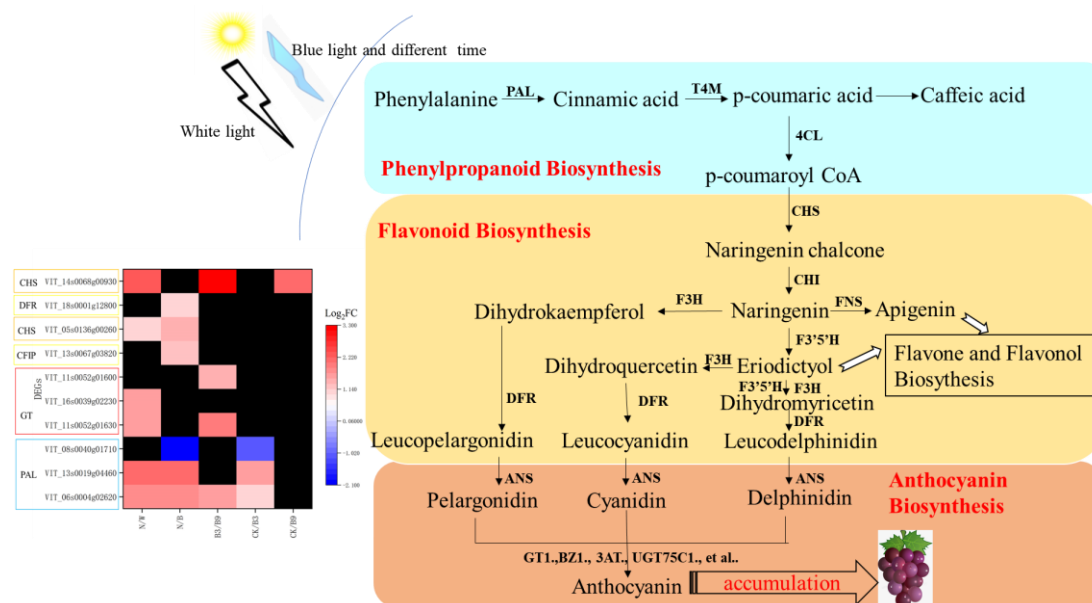


图 4-8 与花青素合成有关的葡萄皮基因表达改变的 KEGG 通路分析。示意图由 vvi00360、vvi00940、vvi00941、vvi00942 和 vvi00944 的通路整合而成。每个黑色实心箭头代表一个酶催化过程。浅蓝色背景的方框代表苯丙类生物合成；橙色背景的方框代表类黄酮生物合成；橙红色背景的方框代表花青素生物合成。基因表达量的差异以 log2 (Fold Change) 值表示，归一化值以色标表示。黑色背景代表该对比组中表达量不显著的基因，蓝色表示下调，红色表示上调。F3'5'H，类黄酮 3',5'-羟化酶；DFR，双功能二氢黄酮醇还原酶；BZ1，花青素 3-O-葡萄糖基转移酶；GT1，花青素 5,3-O-葡萄糖基转移酶；PAL，苯丙氨酸氨化酶；T4M，反式肉桂酸 4-单加氧酶；4CL，4-香豆酸--CoA 连接酶；CHS，查尔酮合成酶；CHI，查尔酮异构酶；ANS，花青素合成酶；F3H，柚皮素 3-二氧合酶；FNS，黄酮合成酶；UGT75C1，花青素 3-O-葡萄糖苷 5-O-葡萄糖基转移酶；3AT，花青素 3-O-葡萄糖苷 6"-O-酰基转移酶。

Fig. 4-8 Analysis of the KEGG pathway with altered gene expression in grape skins associated with anthocyanin synthesis. The schematic was made by integrating the pathways of vvi00360, vvi00940, vvi00941, vvi00942 and vvi00944. Each solid black arrow represents an enzyme-

catalyzed process. The boxes on a light-blue background represent phenylpropanoid biosynthesis; the boxes with an orange background represent flavonoid biosynthesis; the box with the orange-red background represents anthocyanin biosynthesis. The difference in gene expression is expressed as the log₂ (Fold Change) value, and the normalized values are shown on color scales. The black background represents genes not significantly expressed in this comparison group, blue indicates down-regulation, and red indicates up-regulation. F3'5'H, flavonoid 3',5'-hydroxylase; DFR, bifunctional dihydroflavonol reductase; BZ1, anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase; GT1 anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase; PAL, phenylalanine ammonia-lyase; T4M, trans-cinnamate 4-monooxygenase; 4CL, 4-coumarate--CoA ligase; CHS, chalcone synthase; CHI, chalcone isomerase; ANS, anthocyanidin synthase; F3H, naringenin 3-dioxygenase; FNS, flavone synthase; UGT75C1, anthocyanidin 3-O-glucoside 5-O-glucosyltransferase; 3AT, anthocyanidin 3-O-glucoside 6"-O-acyltransferase.

4.5.4 调控花色苷积累的 TFs

TFs 在调节光诱导的葡萄果皮花色苷的积累方面具有重要作用(图 4-9)。TFs(bHLH、MYB、ERF、C2H2、MYB-related 和 NAC)在葡萄组织中的表达差异与类黄酮和花青素生物合成有关,且与葡萄在不同光照条件下酚类物质的积累表现出高度的正相关^[148]。MYBA1 高度激活葡萄果肉中的 ANS2 启动子, EFR23 和 bHLH93 激活 DFR 基因来参与葡萄浆果肉色的调控^[150]。MYB 也可与 bHLH 相互作用, 促进 UFGT 启动子活性和花青素生物合成。NAC 可以通过与 MYB 的启动子结合促进花色苷的积累^[152]。WRKY5 可以与 MYBA1 相互作用通过促进茉莉酸的生物合成来正向调控葡萄花色苷的合成^[153]。WRKY 主要存在于细胞核, WRKY75, 它包含典型的 WRKYGQK 七肽序列和 C2H2-锌指结构^[154]。UV-B 可以诱导 WRKY71-L 的表达, 并通过与 MYB1 和 UFGT 的启动子相互作用促进苹果愈伤组织中花青素的积累^[155]。TF(bHLH、MYB、ERF、WRKY、C2H2、MYB-related 和 NAC)在 DL 和 DT 处理下均显著表达, 说明这些 TFs 可以调节葡萄果皮中花色苷的表达水平。

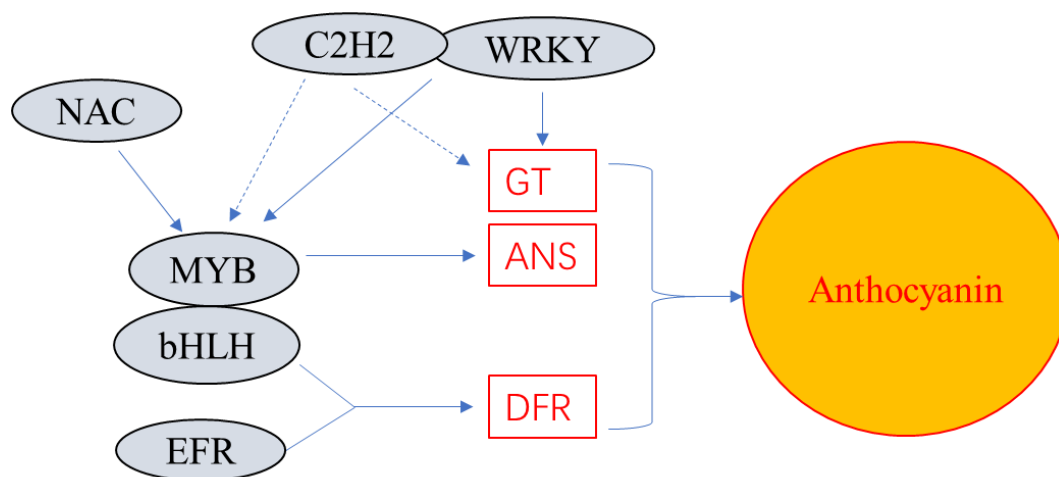


图 4-9 转录因子对花青素合成相关酶的影响。红色方框代表与花青素合成相关的酶；椭圆代表转录因子；实线箭头表示该途径已被证实，虚线表示还不确定。

Fig. 4-9 Effect of transcription factors on enzymes associated with anthocyanin synthesis. Red boxes represent enzymes associated with anthocyanin synthesis; ellipses represent transcription factors; solid arrows indicate that the pathway has been demonstrated and dashed lines indicate that it is uncertain.

4.6 结论

利用转录组数据分析了在 DL 和 DT 处理下 ‘Kyoho’ 葡萄果皮花色苷合成相关途径的调控作用，并通过 Q-PCR 验证了 RNA-seq 结果的可靠性。在夜间补光处理下，花青素合成途径中的关键基因 PAL、CHS、DFR、GT、CFIP、未知基因（VIT_14s0068g00920、VIT_06s0009g02860、VIT_06s0004g08150）显著上调，使苯丙酮生物合成、类黄酮、黄酮和黄酮醇生物合成、花青素生物合成途径等代谢通路的显著表达，促进花色苷的积累。蓝光能使 PAL(VIT_08s0040g01710)、CFIP(VIT_13s0067g03820、VIT_13s0067g02870)和 DFR(VIT_18s0001g12800)显著表达，这可能是蓝光比白光在 ‘Kyoho’ 葡萄果皮花色苷富集方面的效果更好的原因之一。DT 处理使 GT(VIT_11s0052g01600)、过氧化物酶、VIT_09s0018g01190、VIT_11s0037g00570 表达显著。此外，发现了大量的 TFs 如：bHLH、MYB、ERF、WRKY、C2H2、MYB-related 和 NAC 等参与光调控下花色苷的合成。这些结果为研究 ‘Kyoho’ 葡萄果皮花青素的积累和参与花青素合成的候选基因提供了有价值的信息。

第5章 结论与展望

5.1 结论

1. 采用 3 种 LED 光源（白光、红光、蓝光）对在转色期的巨峰葡萄进行夜间延时补光处理，以设施内夜间不补光处理作为对照，发现与对照组相比，3 种补光处理均能显著提高葡萄花色苷的含量，加快褪黑素的降解，对果实重量和纵横径的影响不显著。蓝光能显著提高花色苷、可溶性固形物、还原糖、GABA、总多酚含量以及抗氧化能力，降低可滴定酸，白光次之；可溶性固形物与还原糖（ $P<0.01$ ）、花色苷、Asp 显著正相关；花色苷与 Asp（ $P<0.01$ ）、Phe、Leu、His 显著正相关。3 种光质均能显著提高 Asp、Thr、Met、Ile 和 Phe 的含量。此外，蓝光显著提高 Ala、Cys、Val、Lys、His、Arg 和 Pro 的含量。

2. 夜间补充蓝光 3h、6h、9h 和 12h 对葡萄进行处理，以夜间不进行补光处理作为对照。与对照组相比，夜间不同蓝光时长的补光处理对葡萄果实的重量和纵横径以及 ABTS 自由基清除能力的影响不显著；但能显著提高葡萄果实的可溶性固形物、还原糖、花色苷、总多酚、总黄酮、GABA 和游离氨基酸等功能成分以及 DPPH 自由基清除能力；显著降低 pH 值、总酸和褪黑素含量。其中蓝光 9h 对可溶性固形物、还原糖、氨基酸、花色苷、总多酚、总黄酮、以及 DPPH 自由基清除能力的效果最优，蓝光 6h 次之。

3. 采用 RNA-seq 数据分析，并通过 Q-PCR 验证了 RNA-seq 结果具有可靠性。在夜间补光处理下，花青素合成途径中的关键基因 PAL、CHS、DFR、GT、CFIP、VIT_14s0068g00920、VIT_06s0009g02860、VIT_06s0004g08150 等基因显著上调，使苯丙酮生物合成、类黄酮、黄酮和黄酮醇生物合成、花青素生物合成途径等通路显著富集，促进花色苷的积累。蓝光能使 PAL、CFIP、DFR 等基因显著表达，在葡萄果皮花色苷富集方面，这可能是蓝光比白光的效果更好的原因之一。不同时长的蓝光处理使糖苷转移酶(GT)、过氧化物酶、基因(VIT_09s0018g01190 和 VIT_11s0037g00570)表达显著。此外，发现了大量的转录因子(如: bHLH、MYB、ERF、WRKY、C2H2、MYB-related 和 NAC 等)参与

光调控下花色苷的合成。这些结果为夜间补光调控葡萄花色苷的积累提供新的认识。

5.2 创新点

(1) 选用 LED 光源进行夜间补光处理, 利用不同光质(白、红、蓝光)照射遴选得到葡萄花色苷含量最高的 LED 光源。

(2) 通过不同蓝光照射时长处理, 得到蓝光在夜间最佳的补光时长以提高葡萄花色苷的含量和品质。

(3) 利用转录组学分析揭示葡萄花色苷生物合成的分子机制, 为高品质葡萄种植提供现实依据。

5.3 展望

1. 本研究主要集中于白、红、蓝三种 LED 光源对葡萄进行补光处理, 并探究了三种光质对葡萄花色苷的影响。本研究尚未涉及更多种类的 LED 光源对转色期葡萄花色苷的影响。未来可以通过更多的 LED 光源和处理来了解不同光质对葡萄花色苷的调控作用。

2. 在光调控的过程中, 我们主要关注于葡萄总花色苷含量的变化, 尚未涉及葡萄单体花色苷的研究, 后续可以通过靶向代谢组学对葡萄单体花色苷的变化进行定量分析, 从而更深入的了解补光处理对花色苷的调控。

3. 在转录组的分析数据中, 我们发现了大量的 DEGs 和 TFs, 这些 DEGs 和 TFs 还有部分基因没有进行系统性的验证研究。对于得到的 DEGs 和 TF, 后续可以通过双荧光素酶、酵母杂交等实验进行系统性的验证研究。此外, 我们在研究的过程中还发现了部分未知基因在光调控工程中显著表达, 对于这些未知基因, 我们还没有进行系统性的功能验证。因此, 为了进一步验证这些未知基因的功能, 我们可以通过基因敲除和转基因等分子生物学手段, 来深入探讨这些未知基因的具体功能和作用。

参考文献

- [1] Patrizia R, Ursula F, Claude J R, et al. Grapes and their derivatives in modulation of cognitive decline: A critical review of epidemiological and randomized-controlled trials in humans[J].Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(4):566-576.
- [2] Unusan N. Proanthocyanidins in grape seeds: An updated review of their health benefits and potential uses in the food industry[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 67:103861-103861.
- [3] Francesca C, Chiara L D, Luca R, et al. Phenolic profiles and anti-inflammatory activities of sixteen table grape(*Vitis vinifera* L.)varieties[J].Food & Function, 2019, 10(4):1797-1807.
- [4] 张鹏, 孙吉武, 庞勇, 等. 5 个葡萄品种在兰州日光温室的栽培表现[J]. 果树资源学报, 2025, 6(02):124-126.
- [5] Panagiotis K, Dimitra D, Thomas M. Recent applications of grapes and their derivatives in dairy products[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 114:696-711.
- [6] 孔令雷, 刘洪勇, 赵冬, 等. 避雨栽培及补光措施对‘阳光玫瑰’葡萄果实性状的影响[J]. 中国果菜, 2024, 44(01):58-61.
- [7] Xia E, Deng G, Guo Y, et al. Biological Activities of Polyphenols from Grapes[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11(2):622.
- [8] Edurne E, Carmen M V, Iratxe L, et al. Study of Unpicked Grapes Valorization: A Natural Source of Polyphenolic Compounds and Evaluation of Their Antioxidant Capacity[J]. Resources, 2022, 11(3):33-33.
- [9] Stamer K D, Nizami A S, Lee Y F, et al. Whole grape alleviates inflammatory arthritis through inhibition of tumor necrosis factor[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 35:458-465.
- [10] Xue H, Jielong G, Manwen Y, et al. Grape Extract Activates Brown Adipose Tissue Through Pathway Involving the Regulation of Gut Microbiota and Bile Acid[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020, 64(10):e2000149.

- [11]Yujing B, Ruifu Y. Human gut microbiota, nutrition and health[J]. Chinese Science Bulletin, 2019, 64(3):260-271.
- [12]Sarah Y B, Guillaume B, Hélène B D, et al. Neuroprotective benefits of grape seed and skin extract in a mouse model of Parkinson's disease[J]. Nutritional Neuroscience, 2021, 24(3):197-211.
- [13]Daniel G, Tiago M, Ioannis B, et al. Characterization of conventional, biodynamic, and organic purple grape juices by chemical markers, antioxidant capacity, and instrumental taste profile[J]. Journal of Food Science, 2015, 80(1):C55-65.
- [14]Shu C, Zhang S, Li B, et al. Microorganism-mediated production of anthocyanins: Current progress and future prospects[J]. Food Research International, 2025, 201: 115550.
- [15]徐渊金, 杜琪珍. 花色苷生物活性的研究进展[J]. 食品与机械. 2006, 22(6): 154-157.
- [16]Li M, Sun L, Gu H, et al. Genome-wide characterization and analysis of bHLH transcription factors related to anthocyanin biosynthesis in spine grapes(*Vitis vinifera* L.)[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1):114.
- [17]Hélder N V M. Dietary polyglycosylated anthocyanins, the smart option? A comprehensive review on their health benefits and technological applications[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(4):3096-3128.
- [18]胡彦如, 黄兴连, 叶静文. 植物花青素合成及其调控因素研究进展[J]. 生命科学研究, 2024, 28(06):493-502.
- [19]Arapitsas P, Oliveira J, Mattivi F. Do white grapes really exist? Food Research International. 2015, 69, 21–25.
- [20]He Y J, Tang X, Peng Z H, et al. Anthocyanin-rich dark-colored berries: A bibliometric analysis and review of natural ally in combating glucolipid metabolic disorders[J]. Nutrition, 2025, 131: 112669.
- [21]Xue H, Zha M, Tang Y, et al. Research Progress on the Extraction and Purification of Anthocyanins and Their Interactions with Proteins[J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2024, 29(12):2815-2815.

-
- [22]Xue H K, Zhao J, Wang Y, et al. Factors affecting the stability of anthocyanins and strategies for improving their stability: A review[J]. Food Chemistry: X, 2024, 24101883.
- [23]Bo W M. Light Induced Regulation Pathway of Anthocyanin Biosynthesis in Plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(20):11116-11116.
- [24]肖长春, 韦新宇, 曾跃辉, 等. 不同播期下黑米籽粒花色苷的积累特性及其与气象因子的关系[J]. 中国农业科学, 2025, 58(05):890-906.
- [25]Kumar A A, Mishra P, Kumari K, Panigrahi K C. Environmental stress influencing plant development and flowering. Front in Bioscience. 2012, 4, 1315–1324.
- [26]Ayami Y, Daisuke Y, Kota H, et al. Effects of supplemental lighting during the period of rapid fruit development on the growth, yield, and energy use efficiency in strawberry plant production[J]. International Agrophysics, 2020, 34(2):233-239.
- [27]Yu S, Chengyao J, Lihong G. Polychromatic Supplemental Lighting from underneath Canopy Is More Effective to Enhance Tomato Plant Development by Improving Leaf Photosynthesis and Stomatal Regulation[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 71832.
- [28]Goo H, Park K S. Comparison of Daily Integral Supplemental LED Lighting on Photosynthesis, Growth, and Yield of Paprika[J]. Horticultural Science & Technology 2024, 42(5): 561-574.
- [29]David L, Katherine S, Youbin Z. Increasing Levels of Supplemental LED Light Enhances the Rate Flower Development of Greenhouse-grown Cut Gerbera but does not Affect Flower Size and Quality[J]. Agronomy, 2020, 10(9):1332-1332.
- [30]Shi L, Kim S W. Shoot Growth and Physiological Disorder of Cut Rose 'Charming Black' as Affected by Drought Stress during Nocturnal Supplemental Lighting[J]. Horticulture Environment and Biotechnology, 2014, 55(2):91-96.
- [31]Koo J K, Hwang H S, Hwang S J, et al. Supplemental lighting and CO₂ enrichment on the growth, fruit quality, and yield of cucumber. Horticulture Environment and Biotechnology, 2025, 66(1):77-85.
- [32]Hwang S H, Hwang H J, Koo K J, et al. LEDs supplemental light treatment

- promotes flowering and increases yield of ‘Kuemsil’ strawberries[J]. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 2025, 66(1):1-11.
- [33] Yang R M, Qiu C H, Zheng J F, et al. LED supplementary strategy based on hourly light integral for improving the yield and quality of greenhouse strawberries[J]. *International Journal of Agriculture and Biological Engineering*, 2024, 17(5): 96-104.
- [34] Saigo T, Wang T, Watanabe M, et al. Diversity of anthocyanin and proanthocyanin biosynthesis in land plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2020, 55, 93–99.
- [35] Satitmunnaithum J, Abe I, Mitsuzuka R, et al. Night Blue-light Radiation Enhances Anthocyanin Production in Purple Paprika 'Tequila' by Increasing Its Structural-gene Expression during Fruit Growth[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2024, 149(5): 294-301.
- [36] Skowron E, Trojak M, Pacak I. Effects of UV-B and UV-C Spectrum Supplementation on the Antioxidant Properties and Photosynthetic Activity of Lettuce Cultivars[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(17): 9298-9298.
- [37] Qin H, Xu Y, Liu B, et al. UV-A Supplement Improved Growth, Antioxidant Capacity, and Anthocyanin Accumulation in Purple Lettuce (*Lactuca sativa* L.)[J]. *Horticulturae*, 2023, 9(6):634.
- [38] Giulia L, Ermes P L, Anna D, et al. Modulation of VOC fingerprint and alteration of physiological responses after supplemental LED light in green- and red-leafed sweet basil (*Ocimum basilicum* L.)[J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 315, 111970.
- [39] Nájera C, Ros M, Moreno A D, et al. Combined effect of an agro-industrial compost and light spectra composition on yield and phytochemical profile in mizuna and pak choi microgreens[J]. *Heliyon*, 2024, 10(4): e26390.
- [40] Brenk V B J, Courbier S, Kleijweg L C, et al. Corrigendum: Paradise by the far-red light: Far-red and red:blue ratios independently affect yield, pigments, and carbohydrate production in lettuce, *Lactuca sativa*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 151442349-1442349.

-
- [41]Song J, Zhang A, Gao F, et al. Post-veraison sunlight supplementation improved the phenolic profile of Cabernet Gernischt (*Vitis vinifera* L.) grape and wine in a temperate monsoon climate[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2024, 132106287.
- [42]Awais A, Viviana C, Piero S, et al. Quality and physiological evaluation of tomato subjected to different supplemental lighting systems[J]. *Scientia Horticulturae*, 2024, 323.
- [43]Vishwanath P P, Bidaramali V, Lata S, et al. Transcriptomics: illuminating the molecular landscape of vegetable crops: a review[J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2024, (prepublish):1-16.
- [44]Ce C, Yining G, Lingli L. Opportunities and challenges in the application of single-cell and spatial transcriptomics in plants [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 141185377-1185377.
- [45]Ruqia S I, Gul A K, Abass M A, et al. Plant transcriptomics and responses to environmental stress: an overview[J]. *Journal of Genetics*, 2015, 94(3): 525-37.
- [46]M J F M. The role of monovalent cation transporters in plant responses to salinity[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(5): 1137-47.
- [47]Daniel K, Ma J J, Seisuke K, et al. Comparative transcriptomics reveals patterns of selection in domesticated and wild tomato[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(28): e2655-62.
- [48]Geng-Qing H, Wen-Liang X, Si-Ying G, et al. Characterization of 19 novel cotton FLA genes and their expression profiling in fiber development and in response to phytohormones and salt stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 134(2): 348-59.
- [49]Luca V, Alberto F, Sara Z, et al. De novo transcriptome characterization of *Vitis vinifera* cv. Corvina unveils varietal diversity[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 41.
- [50]Marianna F, Silvia S D, Sara Z, et al. The grapevine expression atlas reveals a deep transcriptome shift driving the entire plant into a maturation program[J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(9): 3489-505.
- [51]Serrano A, Espinoza C, Armijo G, et al. Omics Approaches for Understanding

- Grapevine Berry Development: Regulatory Networks Associated with Endogenous Processes and Environmental Responses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017,81486.
- [52]B L S A, A S L, C X T, et al. Transcriptome analysis reveal the putative genes involved in light-induced anthocyanin accumulation in grape 'Red Globe'(*V. vinifera* L.)[J]. *Genes*, 2023, 728.
- [53]Fu D, Qi J, Su L, et al. Chalcone synthase 2 (BpCHS2), a structural gene, was activated by low temperature to promote anthocyanin synthesis in *Broussonetia papyrifera* to improve its cold tolerance[J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2025, 222109656.
- [54]Li Y, Li M, Guo Z, et al. AoMYB114 transcription factor regulates anthocyanin biosynthesis in the epidermis of tender asparagus stems[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2025, 161531574-1531574.
- [55]Zhang P, Zhao Q, Song Y, et al. Identification of key genes controlling anthocyanin biosynthesis in the fruits of a bud variety of Tarocco blood-orange[J]. *BMC Plant Biology*, 2025, 25(1): 230.
- [56]Shen B, Wu H, Xie X, et al. Comparative Transcriptomic Analyses of Anthocyanin Biosynthesis Genes in Eggplant Under Low Temperature and Weak Light[J]. *Plants*, 2025,14(3): 478-478.
- [57]Sun L, Li D, Ma C, et al. Transcriptomic Analysis of Wheat Under Multi LED Light Conditions[J]. *Plants*, 2024, 14(1): 46-46.
- [58]刘晶, 马丽, 魏潇, 等. 几个葡萄品种生理品质的研究[J]. *北方果树*, 2018(6): 4-6.
- [59]Beata, O. Berry Phenolic Antioxidants—Implications for Human Health? *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9, 78.
- [60]Meng J, Ning P F, Xu T F, et al. Effect of Rain-Shelter Cultivation of *Vitis vinifera* cv. Cabernet gernischet on the Phenolic Profile of Berry Skins and the Incidence of Grape Diseases. *Molecules*, 2013, 18, 381–397.
- [61]刘帅, 张亚红, 刘鑫, 等. 不同光源补光对设施红地球葡萄果实品质的影响[J]. *江苏农业学报*, 2021, 37(4): 949-956.

- [62]黄秋凤, 谢蜀豫, 曹慕明, 等. 夜间补光对巨峰葡萄春果叶片营养及果实品质的影响[J]. 南方农业学报, 2019, 50(4): 781-787.
- [63]郑晓翠, 刘凤之, 王海波, 等. 不同光质补光对设施内桃果实品质及叶片质量的影响[J]. 西北植物学报, 2023, 43(6): 979-987.
- [64]Ma Z H, Li W F, Mao J, et al. Synthesis of light-inducible and light-independent anthocyanins regulated by specific genes in grape ‘Marselan’ (*V. vinifera* L.)[J]. PeerJ, 2019, 7: e6521.
- [65]Li C X, Chang S X, Khalil U R M, et al. Effect of irradiating the leaf abaxial surface with supplemental light-emitting diode lights on grape photosynthesis[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2017, 23(1): 58-65.
- [66]Gonzalvez A G, Martinez N L, Telle H H, et al. Monitoring LED-induced carotenoid increase in grapes by Transmission Resonance Raman spectroscopy[J]. Chemical Physics Letters, 2013, 559: 26-29.
- [67]朱鹿坤, 陈俊琴, 赵雪雅, 等. 红蓝绿 LED 延时补光对日光温室黄瓜育苗的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2020, 51(4): 402-409.
- [68]韩文, 郭鹏飞, 张坤, 等. 夜间延时补光调控对番茄幼苗生长及根系构型的影响[J]. 园艺与种苗, 2018, 38(2): 7-11, 27.
- [69]Rodyoung A, MasudaY, Tomiyama H, et al. Effects of light emitting diode irradiation at night on abscisic acid metabolism and anthocyanin synthesis in grapes in different growing seasons[J]. Plant Growth Regulation, 2016, 79(1): 39-46.
- [70]刘美迎. 光和外源乙烯调控葡萄果皮酚类物质合成及其机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [71]Blanch G P, Gomez J M C, Delcastillo M L R. Exogenous salicylic acid improves phenolic content and antioxidant activity in table grapes[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2020, 75(2): 177-183.
- [72]Peinado J, Lopez D L N, Moreno J, et al. Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximenez grapes at different stages of the off-vine drying process[J]. Food Chemistry, 2009, 114(3): 1050-1055.

- [73]Herald T J, Gadgil P, Tilley M. High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in Sorghum bran and flour[J]. Journal Of The Science Of Food And Agriculture, 2012, 92(11): 2326-2331.
- [74]Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9/10): 1231-1237.
- [75]Ai T N, Naing A H, Kim C K. Influences of different light sources and light/dark cycles on anthocyanin accumulation and plant growth in Petunia[J]. Plant Biotechnology Journal, 2016, 43(1): 119-124.
- [76]时晓芳, 林玲, 白先进, 等. 阳光玫瑰葡萄果实生长发育及品质对不同光质的响应[J]. 南方农业学报, 2021, 52(6): 1641-1647.
- [77]张克坤, 刘凤之, 王孝娣, 等. 不同光质补光对促早栽培‘瑞都香玉’葡萄果实品质的影响[J]. 应用生态学报, 2017, 28(1): 115-126.
- [78]李都岳, 吴延军. 补光对设施栽培樱桃果实成熟和糖分积累的影响[J]. 果树学报, 2023, 40(10): 2183-2194.
- [79]陈心源, 殷益明, 朱利鑫, 等. 光质对火龙果糖分积累及其代谢酶活性的影响[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(7): 1079-1085.
- [80]刘义富, 王加真, 周玲艳. 荧光灯、LED 灯对福鼎大白茶树叶片光合生理及茶叶品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(21): 133-139.
- [81]陈华伟, 乐小凤, 张振文. 不同棚膜颜色对赤霞珠葡萄果实氨基酸含量的影响[J]. 中国酿造, 2021, 40(3): 143-148.
- [82]Zhou F H, Yue X Z, Xu D Y, et al. LED irradiation delays postharvest senescence in pakchoi by regulating amino acid metabolism[J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 194: 112047.
- [83]Dhakal R, Baek K H. Metabolic alternation in the accumulation of free amino acids and γ -aminobutyric acid in postharvest mature green tomatoes following irradiation with blue light[J]. Horticulture Environment and Biotechnology, 2014, 55(1): 36-41.
- [84]Li X H, Kim Y B, Uddin M R, et al. Influence of light on the free amino acid content

- and γ -aminobutyric acid synthesis in *Brassica juncea* seedlings[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(36): 8624-8631.
- [85] 查倩, 奚晓军, 殷向静, 等. 转色期补光处理对鲜食葡萄‘巨峰’和‘巨玫瑰’果实品质的影响[J]. *中国农学通报*, 2022, 38(31): 55-59.
- [86] 邱江波. 大气 CO₂ 浓度升高、减氮和 LED 补光对草莓生长、品质及产量的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
- [87] Guo S H, Xu T F, Shi T C, et al. Cluster bagging promotes melatonin biosynthesis in the berry skins of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon and Carignan during development and ripening[J]. *Food Chemistry*, 2020, 305: 125502.
- [88] Zhang H, Wang L, Shi K, et al. Apple tree flowering is mediated by low level of melatonin under the regulation of seasonal light signal[J]. *Journal of Pineal Research*, 2019, 66(2): e12551.
- [89] 莫言玲, 罗亚兰, 刘义华, 等. 不同 LED 光质对芥菜芽苗菜生长、营养品质和抗氧化特性的影响[J]. *中国蔬菜*, 2023(11): 56-62.
- [90] 许亚良, 刘新颖, 崔寿广, 等. UV-A 对黄瓜嫁接苗质量及生理特性的影响[J]. *植物生理学报*, 2023, 59(7): 1370-1382.
- [91] 朱雪洋, 孟想, 徐宁莉, 等. 光照对黑青稞萌发过程中褪黑素、酚类物质含量和抗氧化活性的影响[J]. *麦类作物学报*, 2021, 41(12): 1503-1511.
- [92] 刘新, 刘政芳, 张彦, 等. 基于游离氨基酸和感官鲜度评价的复合鲜味产品的呈味特征分析[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(7): 287-293.
- [93] Kandylis P, Dimitrellou D, Moschakis T. Recent applications of grapes and their derivatives in dairy products. *Trends in Food Science Technology*, 2021, 114, 696-711.
- [94] Sridhar K, Charles, AL. Proximate, functional, and sensory properties of Kyoho grape (*Vitis labruscana*) skin herbal infusions: Potential as sustainable novel functional beverages. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 152, 112289.
- [95] Zhou D D, Li J H, Xiong R G, Saimaiti A, et al. Bioactive Compounds, Health Benefits and Food Applications of Grape. *Foods*, 2022, 11(18), 2755.
- [96] 胡长久, 喻周一雄, 陈铁文, 等. 冬季补光处理及环剥处理对“阳光玫瑰”葡

- 萄冬果发育的影响[J/OL]. 中国南方果树, 1-10[2025-03-10].
- [97] Zhang J X, Li W P, Zhang P, et al. Effect of Supplementary Light with Different Wavelengths on Anthocyanin Composition, Sugar Accumulation and Volatile Compound Profiles of Grapes. *Foods*, 2023, 12(22),4165.
- [98] Lai C C, Pan H, Zhang J, et al. Light Quality Modulates Growth, Triggers Differential Accumulation of Phenolic Compounds, and Changes the Total Antioxidant Capacity in the Red Callus of *Vitis davidii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(41), 13264-13278.
- [99] Biswal D P, Panigrahi K C S. Photoperiodic control of growth and reproduction in non-flowering plants. *Journal of Experimental Botany*, 2025, 76(3):851-872.
- [100] Wu S F, Li R G, Bu C X, et al. Photoperiodic effect on growth, photosynthesis, mineral elements, and metabolome of tomato seedlings in a plant factory[J]. *Plants (Basel)*, 2024, 13(22): 3119.
- [101] 杜琦琦, 尹赭鹏. 光对果实香气品质影响研究进展[J/OL]. 植物研究, 1-14[2025-03-10].
- [102] 车功恒, 张国华, 肖军霞, 等. 蓝光光周期对甘蓝芽苗菜营养品质的影响[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(14): 16-22.
- [103] 韩冰, 高文瑞, 孙艳军, 等. 不同光周期对番茄幼苗生理特性及定植后开花结果的影响[J]. *江西农业学报*, 2025, 37(02): 70-74.
- [104] 池铭, 孙丽娟, 郝浩然, 等. 不同周期蓝光处理对采后桃果皮色泽及花色苷代谢的影响[J]. *食品研究与开发*, 2024, 45(22):1-8.
- [105] 徐宁莉, 陶瑾, 张莉方, 等. 硫酸锌胁迫对萌发青稞功能成分及抗氧化能力的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(08):114-120+129.
- [106] Hu H Z, Huang T, Zhang N, et al. Interference of skeleton photoperiod in circadian clock and photosynthetic efficiency of tea plant: in-depth analysis of mathematical model.[J]. *Horticulture Research*, 2024, 11(10): uhae226.
- [107] Zhou W, Xiao Y R, Yang X Y, et al. Clock protein LHY targets SNAT1 and negatively regulates the biosynthesis of melatonin in *Hypericum perforatum*[J]. *Science Advances*, 2024, 10(38): eadq6505.

-
- [108] Li W P, Zheng T Y, Fang Y L, et al. Supplementary light with different wavelengths improved the monoterpenes aroma and quality traits of 'Shine Muscat' grape berries under facility cultivation[J]. Food Chemistry, 2025, 474:143255.
 - [109] Zhang P A, Suwen L, Zhongjie L, et al. Transcriptomic and Metabolomic Profiling Reveals the Effect of LED Light Quality on Fruit Ripening and Anthocyanin Accumulation in Cabernet Sauvignon Grape[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8790697-790697.
 - [110] Kim J S. The effect of artificial lights on the growth and quality of hydroponic cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) sprouts[J]. Journal of Plant Biotechnology, 2021, 48(1): 62-70.
 - [111] Dávid T, Mónika G, Éva D, et al. Light intensity and spectrum affect metabolism of glutathione and amino acids at transcriptional level[J]. PloS One, 2019, 14(12): e0227271.
 - [112] Tayebbeh A, Leila S, R M S. Light emitting diodes improved the metabolism of rosmarinic acid and amino acids at the transcriptional level in two genotypes of *Melissa officinalis* L[J]. Functional plant biology: FPB, 2022, 49(12).
 - [113] Zhang L C, Du L C, Yu M, et al. Effects of pulsed light on germination and gamma-aminobutyric acid synthesis in brown rice[J]. Journal of Food Science, 2022, 87(4): 1601-1609.
 - [114] Park E H, Chul K S. Effects of Various Wavelength on the Hardness and the Free Amino Acid Contents of Soybean Sprouts[J]. Korean Journal of Environmental Agriculture, 2011, 30(4): 402-408.
 - [115] AL-Quraan N A, AL-Akhras M A, Talafha D Z. The influence of laser beam and high light intensity on lentil (*Lens culinaris*) and wheat (*Triticum aestivum*) seedlings growth and metabolism[J]. Plant Biosystems, 2022, 156(1): 95-115.
 - [116] Sun W, Yan Y, Muhammad Z, et al. Transcriptomic Analyses Reveal the Mechanism by Which Different Light Qualities and Light Duration Induce Anthocyanin Biosynthesis in 'Kyoho' Grapes[J]. Horticulturae, 2024, 10(8): 791-791.

-
- [117] Shi T, Su Y, Lan Y, et al. The molecular basis of flavonoid biosynthesis response to water, light, and temperature in grape berries[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 151441893-1441893.
- [118] 周铮荣, 赵和国, 苏翰英, 等. 不同 LED 红蓝光质处理对枳幼苗生长的影响[J]. *果树学报*, 2024, 41(12): 2498-2511.
- [119] An J.P, Zhang X W, Li H L, et al. The E3 ubiquitin ligases SINA1 and SINA2 integrate with the protein kinase CIPK20 to regulate the stability of RGL2a, a positive regulator of anthocyanin biosynthesis[J]. *New Phytologist*, 2023, 239, 1332–1352.
- [120] Song R F, Xiao Y H, Liu W.C, et al. ABA functions in low phosphate-induced anthocyanin accumulation through the transcription factor ABI5 in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Reports*. 2024, 43, 55.
- [121] Xu W J, Christian D, Loïc L. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB–bHLH–WDR complexes[J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20, 176–185.
- [122] Liu M Y, Zhu Q, Yang Y, et al. Light influences the effect of exogenous ethylene on the phenolic composition of Cabernet sauvignon grapes[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15, 1356257.
- [123] Zhang Y T, Jiang L Y, Li Y L, et al. Effect of Red and Blue Light on Anthocyanin Accumulation and Differential Gene Expression in Strawberry (*Fragaria × ananassa*) [J]. *Molecules*, 2018, 23, 820.
- [124] Chen S, Wang X J, Cheng Y, et al. Effects of Supplemental Lighting on Flavonoid and Anthocyanin Biosynthesis in Strawberry Flesh Revealed via Metabolome and Transcriptome Co-Analysis[J]. *Plants*, 2024, 13, 1070.
- [125] Lee J H, Yong B K, Yoo H R, et al. Effect of Various LED Light Qualities, Including Wide Red Spectrum-LED, on the Growth and Quality of Mini Red Romaine Lettuce (cv. Breen) [J]. *Plants*, 2023, 12, 2056.
- [126] Zhang J X, Li W.P, Zhang P, et al. Effect of Supplementary Light with Different Wavelengths on Anthocyanin Composition, Sugar Accumulation and Volatile Compound Profiles of Grapes[J]. *Foods*, 2023, 12, 4165.

-
- [127] Nassarawa S S, Bao N, Zhang X, et al. Evaluation of light irradiation on anthocyanins and energy metabolism of grape (*Vitis vinifera* L.) during storage[J]. Food Chemistry, 2023, 431, 137141.
- [128] Hooks T, Sun L, Kong Y, et al. Short-Term Pre-Harvest Supplemental Lighting with Different Light Emitting Diodes Improves Greenhouse Lettuce Quality[J]. Horticulturae, 2022, 8, 435.
- [129] Lanoue J, Little C, Hao X. The Power of Far-Red Light at Night: Photomorphogenic, Physiological, and Yield Response in Pepper During Dynamic 24 Hour Lighting[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13, 857616.
- [130] Ma Y, Ma X, Gao X, et al. Light Induced Regulation Pathway of Anthocyanin Biosynthesis in Plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22, 11116.
- [131] Gao S W, Wang F, Zhang X Q, et al. Characterization of anthocyanin and nonanthocyanidin phenolic compounds and/or their biosynthesis pathway in red-fleshed ‘Kanghong’ grape berries and their wine[J]. Food Research International, 2022, 161, 111789.
- [132] Siebeneichler T J, Crizel R L, Rombaldi C V, et al. Regulation of phenylpropanoid biosynthesis in strawberry ripening: Molecular and hormonal mechanisms[J]. Phytochemistry Reviews, 2024, in press.
- [133] Cheng X H, Wang P P, Chen Q Y, et al. Enhancement of anthocyanin and chromatic profiles in ‘Cabernet sauvignon’ (*Vitis vinifera* L.) by foliar nitrogen fertilizer during veraison[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2022, 102, 383–395.
- [134] Movahed N, Pastore C, Cellini A, et al. The grapevine vviprx31 peroxidase as a candidate gene involved in anthocyanin degradation in ripening berries under high temperature[J]. Journal of Plant Research, 2016, 129, 513–526.
- [135] Wei Z W, Yang H Y, Shi J, et al. Effects of Different Light Wavelengths on Fruit Quality and Gene Expression of Anthocyanin Biosynthesis in Blueberry (*Vaccinium corymbosm*) [J]. Cells, 2023, 12, 1225.

-
- [136] Massonnet M, Fasoli M, Tornielli G B, et al. Ripening transcriptomic program in red and white grapevine varieties correlates with berry skin anthocyanin accumulation[J]. *Plant Physiology*, 2017, 174, 2376–2396.
 - [137] Ma S, Hu R, Ma J, et al. Integrative analysis of the metabolome and transcriptome provides insights into the mechanisms of anthocyanins and proanthocyanidins biosynthesis in *trifolium repens*[J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 187, 115529.
 - [138] Vainio J, Mattila S, Abdou S M, et al. *Petunia* dihydroflavonol 4-reductase is only a few amino acids away from producing orange pelargonidin-based anthocyanins[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14, 1227219.
 - [139] Zhou Y, Mumtaz M A, Zhang Y H, et al. Response of Anthocyanin Accumulation in Pepper (*Capsicum annuum*) Fruit to Light Days[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23, 8357.
 - [140] Wang Y X, Zhou L J, Wang Y G, et al. Functional identification of a flavone synthase and a flavonol synthase genes affecting flower color formation in *chrysanthemum morifolium*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 166, 1109–1120.
 - [141] Mirza, R.; Robinson, R. Conversion of flavonols into anthocyanidins[J]. *Nature*, 1950, 166, 997.
 - [142] Dbski H, Wiczowski W, Szawara N D, et al. Enhanced light intensity increases flavonol and anthocyanin concentrations but reduces flavone levels in the cotyledons of common buckwheat seedlings[J]. *Cereal Research Communications*, 2017, 45, 225–233.
 - [143] Clayton-Cuch D, Yu L, McDougal D, et al. Biochemical and in silico characterization of glycosyltransferases from red sweet cherry (*Prunus avium L.*) reveals their broad specificity toward phenolic substrates[J]. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 2024, 8, 100193.
 - [144] Li H, Li Y, Wang X, et al. Characterization of Glycosyltransferase Family 1 (GT1) and Their Potential Roles in Anthocyanin Biosynthesis in Maize[J]. *Genes*,

- 2023, 14, 2099.
- [145] Wang Y Y, Xiao Y Q, Sun Y T, et al. Two B-box proteins, PavBBX6/9, positively regulate light-induced anthocyanin accumulation in sweet cherry[J]. Plant Physiology, 2023, 192, 2030–2048.
- [146] Bai Y, Jiang L T, Li Z, et al. Flavonoid Metabolism in *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg Based on Metabolome Analysis and Transcriptome Sequencing[J]. Molecules, 2022, 28, 83.
- [147] Ren C H, Cao Y L, Xing M Y, et al. Genome-wide analysis of UDP-glycosyltransferase gene family and identification of members involved in flavonoid glucosylation in Chinese bayberry (*Morella rubra*) [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13, 998985.
- [148] Sun R Z, Cheng G, Li Q, et al. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal developmental stage-dependent effects of cluster bagging on phenolic metabolism in Cabernet sauvignon grape berries[J]. BMC Plant Biology. 2019, 19, 583.
- [149] Yin H N, Wang L, Xi Z M. Involvement of Anthocyanin Biosynthesis of Cabernet sauvignon Grape Skins in Response to Field Screening and In Vitro Culture Irradiating Infrared Radiation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70, 12807–12818.
- [150] Lu R, Song M, Wang Z, et al. Independent flavonoid and anthocyanin biosynthesis in the flesh of a red-fleshed table grape revealed by metabolome and transcriptome co-analysis[J]. BMC Plant Biology, 2023, 23, 361.
- [151] Pang Q Q, Yu W B, Sadeghnezhad E, et al. Omic analysis of anthocyanin synthesis in wine grape leaves under low-temperature[J]. Scientia Horticulturae, 2023, 307, 111483.
- [152] Sun Q, Jiang S H, Zhang T L, et al. Apple NAC transcription factor MdNAC52 regulates biosynthesis of anthocyanin and proanthocyanidin through MdMYB9 and MdMYB11[J]. Plant Science. 2019, 289, 110286.
- [153] Zhang Z, Chen C, Jiang C Y, et al. VvWRKY5 positively regulates wounding-

- induced anthocyanin accumulation in grape by interplaying with VvMYBA1 and promoting jasmonic acid biosynthesis[J]. Horticulture Research, 2024, 11, uhae083.
- [154] Su M Y, Zuo W F, Wang Y C, et al. The WKRY transcription factor MdWRKY75 regulates anthocyanins accumulation in apples (*Malus domestica*) [J]. Functional Plant Biology, 2022, 49, 799–809.
- [155] Su M Y, Wang S, Li C X, et al. Ultraviolet-B-induced MdWRKY71-L expression regulates anthocyanin synthesis in apple[J]. Environmental and Experimental Botany, 2022, 201, 105000.

攻读学位期间发表的学术论文

- [1] **Sun W**, Yan Y, Zhang G, et al. Transcriptomic Analyses Reveal the Mechanism by Which Different Light Qualities and Light Duration Induce Anthocyanin Biosynthesis in ‘Kyoho’ Grapes. *Horticulturae* 2024, 10, 791. (SCI 三区, IF=3.1)
- [2] **Sun W**, Yan Y, Zhang G, et al. Label-free and TMT-labeled Proteomics Methods to Compare Differences on Normal and Attached Livers of *Glyptosternum maculatum*. *Current Proteomics* 2024. (SCI 四区, IF=0.5)
- [3] **孙武**, 姜心豪, 张国强, 等. 夜间不同光质补光处理对转色期葡萄果实功能成分及品质的影响. *安徽农业大学学报*, 2025, 03. (CSCD 扩展库收录)
- [4] 张国强, **孙武**, 黄益娜, 等. 一种具有高降血糖活性的葡萄皮渣冻干粉的制备方法与应用. 2025. (发明专利—已受理)
- [5] **孙武**, 刘海平, 张国强, 等. ITRAQ 蛋白质组学分析揭示黑斑原鲢主副肝的差异. *江苏农业学报*. (返修后复审)

致谢

行文至此，终于熬到写致谢了，心中异常激动。回首过去的三年，有快乐，也有痛苦。痛苦的是那些熬夜通宵做实验时的无奈，论文拒稿时的自我怀疑，协助老师写项目材料时的迷茫；快乐的是收获了面对实验失败时的不断坚持，论文成功发表时的自我肯定，写项目材料时的能力成长。这一路走来，我苦中作乐，在痛苦中不断成长，在快乐中戒骄戒躁，才让那个三年前懵懂无知的小子成长为现在小有成果的硕士研究生。在这过程中，离不开诸多良师益友的帮助。

首先，要感谢我的导师张国强教授。感谢我的导师在科研上给予了我专业的指导，在生活中给了我不断成长的机会，教会我做人做事的道理。感谢黄益娜老师和张国强教授在我申博道路上提供的巨大帮助，让我能成功进入南昌大学读博。

衷心感谢我的师兄师姐们，李峥宏、郭玉峰、廖薛羿、徐宁莉、张莉方和陶瑾在我做实验时的帮助，教我最基本的实验操作。感谢实验室同门姜心豪、黄杰、宁方方、马明欣的陪伴与协作，与你们并肩作战的时光，是这段旅程中最温暖的光亮。感谢师弟钟诚、付爽和师妹裴海汝、章佳欣在我读研过程中带来的快乐。

特别感恩我的父母与家人。你们以无条件的支持包容我科研的枯燥与压力，以朴素的关怀为我筑起心灵的港湾。离家百里，一句“好好读书”始终是我坚持的动力。

最后，感谢那个熬夜做实验、写论文、写项目材料的自己；感谢那个与自己较劲、坚持理想的自己；感谢那个敢于尝试、敢于接受失败的自己。

科学探索永无止境。愿将此阶段的收获化为未来投身生物医药事业的基石，以微薄之力回馈社会，不负所有关爱与期待。