



# 仁用杏果肉 3 个发育阶段的转录组分析

谭金花, 候丽秀, 刘永红, 王胜琪, 魏安智, 刘玉林\*

(西北农林科技大学 林学院, 陕西杨陵 712100)

**摘要:** 仁用杏果肉糖酸比低是造成其鲜食性差的主要原因。该研究以仁用杏‘山苦 2 号’开花后 30、60 和 90 d 的果肉为材料, 利用 RNA-seq 对仁用杏果肉进行转录组测序及差异表达基因的筛选, 以了解可能与糖酸合成相关的基因及其表达模式, 为进一步解析仁用杏果肉糖酸比低的分子调控模式与机制, 深入研究仁用杏果肉糖酸代谢转化机制提供依据。结果显示: (1) 在仁用杏果肉发育的 3 个阶段共获得差异表达的单基因簇(unigene) 28 989 条; 根据单基因簇的功能注释, 共发掘出 19 条单基因簇编码 5 个与仁用杏果肉中糖合成代谢相关的酶, 54 条单基因簇编码 15 个与仁用杏果肉中酸合成代谢相关的酶。(2) 在所选 3 个发育阶段的仁用杏果肉中共发现 9 条与糖代谢相关的单基因簇和 27 条与酸代谢相关的单基因簇呈现差异表达。(3) 编码与蔗糖合成积累相关的蔗糖磷酸酶和蔗糖合成酶的单基因簇主要呈下调表达, 而与糖分解相关的果糖激酶和己糖激酶却呈上调表达。(4) 与仁用杏果肉中主要有机酸组分苹果酸积累相关的苹果酸脱氢酶主要呈上调表达, 而分解苹果酸的苹果酸酶呈下调表达。研究推测, 仁用杏果肉在发育中糖积累受阻, 而有机酸却得到大量的合成积累, 这可能是造成仁用杏果肉糖酸比例小, 鲜食口感差的主要内在因素之一。

**关键词:** 仁用杏; 果肉; 转录组; 糖酸代谢

**中图分类号:** Q789; S662.9      **文献标志码:** A

## Transcriptome Analysis of Kernel-apricot Sarcocarps during Three Development Stages

TAN Jinhua, HOU Lixiu, LIU Yonghong, WANG Shengqi, WEI Anzhi, LIU Yulin\*

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** The low ratio of sugars and organic acids is one of the major reasons for poor taste in kernel-apricot sarcocarp. In this study, to understand the expression patterns of genes which may be associated with sugar and organic acids synthesis and to indentify the molecular regulation pattern and mechanism of the low ratio of sugars and organic acids, we used RNA-seq technique to obtain the transcriptomes and expression profiles of three developing stages (30, 60 and 90 days after flowering) about kernel-apricot sarcocarp of ‘Shanku 2 hao’ to provide a basis for the study of the metabolic and conversion mechanism of sugars and organic acids in kernel-apricot sarcocarp. The results showed that: (1) 28 989 differently expressed unigenes were obtained during the three developing stages. According to the unigene annotation, 5 enzymes encoded by 19 unigenes related to sugar biosynthesis and metabolism and 15 enzymes encoded by 54 unigenes involved in organic acids biosynthesis and metabolism were obtained; (2) Among the differently expressed unigenes, 9 and 27 unigenes of them which related to sugar and organic acid biosynthesis and me-

收稿日期: 2017-06-06; 修改稿收到日期: 2017-10-09

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2013BAD14B02); 中央高校基本科研业务费专项资金(2452015167)

作者简介: 谭金花(1992—), 女, 硕士研究生, 主要从事经济林品种改良研究。E-mail: t1907038184@qq.com

\* 通信作者: 刘玉林, 讲师, 主要从事经济林功能基因发掘与利用研究。E-mail: lyl12504001@126.com

tabolism were differently expressed in the three developing stages, respectively; (3) Most of the unigenes encoding the sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase which related to the sugar accumulation were down-regulated, but the fructokinase and hexokinase that involved in sugar catabolism were up-regulated; (4) The unigenes encoding malate dehydrogenase which associated with accumulation of malic acid was the main components of organic acids in kernel-apricot sarcocarp were mainly up-regulated. However, the malic enzyme catalyzed the breakdown of malic acid was down-regulated. It can be sure that the accumulation of sugars was restrained, but the organic acids were synthesized and accumulated in large quantities during the developments of kernel-apricot sarcocarp. This may be one of the main internal factors that contribute to the low ratio of sugars and organic acids and the poor taste of kernel-apricot sarcocarp.

**Key words:** kernel-apricot; sarcocarp; transcriptome; metabolism of sugars and organic acids

核果类果肉口感主要受其中的糖酸含量及比例调控,是影响果实品质和加工品质的重要因素之一<sup>[1-2]</sup>。仁用杏由于果肉口感酸涩,质地粗糙,难以鲜食,素来以“取仁”为主<sup>[3]</sup>。其果肉再加工需后期人为调整甜度,费时费力,所以大部分都被废弃,造成资源浪费<sup>[4]</sup>。

由于果肉中的糖酸代谢及转化与相关调控基因的表达密切相关<sup>[5]</sup>,因此从分子水平上深入剖析相关调控基因的表达模式,进而探明糖酸转化规律是通过基因工程手段提高仁用杏果肉糖酸比的根本途径。仁用杏由于没有获得全基因组数据库,类似糖酸代谢等功能基因的开发存在一定难度。而基于 RNA-seq 的转录组测序是一个有效研究生物表型特征与分子作用机理的技术,可以在待测物种全基因组序列不明确的前提下,以转录本丰度信息为切入点,从而挖掘目标功能基因<sup>[6-7]</sup>。目前国内外不少学者基于转录组测序对果蔬中的糖酸代谢相关基因进行了研究,进而发掘关键调控基因,为揭示相关物种的果实在不同时期以及不同激素浓度下的糖酸合成与转化提供参考依据<sup>[8-9]</sup>。

本研究以‘山苦 2 号’仁用杏果肉为材料,通过对处于不同发育阶段的仁用杏果肉进行转录组测序,筛选可能与糖酸合成相关的基因,并研究其表达模式,为进一步解析仁用杏果肉糖酸比较低,进而通过生物工程手段提高仁用杏果肉中的糖酸比,培育“仁肉兼用”的杏新品种提供数据参考。

# 1 材料和方法

## 1.1 试验材料及 RNA 提取

供试材料为仁用杏品种‘山苦 2 号’,种植于西北农林科技大学渭河试验站仁用杏种质圃,通过物候期观察,样品采集时间分别为 2016 年开花后 30 d (I 期)、开花后 60 d (II 期)和开花后 90 d (III 期),每个阶段取 3 个果的果肉混合提取 RNA,建库测序。

总 RNA 提取、纯化、文库构建及测序委托北京安诺优达基因科技有限公司进行。

## 1.2 方 法

**1.2.1 转录组测序及功能注释** 利用 Illumina-HiSeq PE125 平台,对 3 个阶段的果肉进行转录组测序。利用组装软件 Trinity<sup>[10]</sup>对 3 个阶段的转录本数据进行混合,*de novo* 组装,获得的转录本序列 (transcript),取每条基因中最长的转录本作为单基因簇 (unigene),以此作为参考转录本进行后续的分析。利用 BLASTx 软件将获得的单基因簇序列与 NR (non-redundant protein)、uniprot (universal Protein)、eggNOG (evolutionary genealogy of genes: non-supervised orthologous groups)、PFAM(the protein families database)、KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)、COG(cluster of orthologous group)等数据库进行比对 (E-value>1e-5)。基于上述数据库的基因注释,筛选参与糖酸合成代谢途径的相关基因。

**1.2.2 差异表达基因的筛选与分析** 将 3 个不同阶段经过质量控制筛选后的干净读序 (clean reads) 与参考转录本 (单基因簇) 进行比对。使用 RPKM 方法对基因表达水平进行量化<sup>[11]</sup>。利用 DEGseq 软件<sup>[12]</sup> (阈值  $q\text{-value}<0.005$  和  $|\log_2(\text{foldchange})|>1$ ) 进行差异基因筛选。利用 KEGG 数据库对差异表达基因进行代谢通路 (pathway) 富集分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 测序数据统计及分析

将 3 个发育阶段的仁用杏果肉分别建库测序后,原始读序 (raw reads) 除去测序接头和低质量序列后,分别获得了 57 520 290、55 947 636、49 579 622 条干净读序,将获得的干净读序 (共 19.71Gb) 进行混合拼接,利用 Trinity 软件组装共得到 65 548 个转录本,平均长度和 N50 分别为

892.7 bp 和1 675 bp;所得转录本序列进一步组装得到52 258个单基因簇,平均长度和 N50 分别为789.2 bp 和1 565 bp。由表 1 可知,转录本与单基因簇的序列多集中在 200~400 bp 之间,分别占转录本与单基因簇总数的 46.27%和 52.99%;此外,大于3 000 bp 的转录本和单基因簇数目均较少,仅有 2 699 条和 1 719 条,分别占转录本和单基因簇总数的4.12%和 3.29%。

2.2 基因表达差异分析

根据 DEGseq 软件筛选仁用杏果肉 3 个发育阶段的差异表达基因。将处于 I、II、III 发育时期的文库表达基因互相比,共筛选出 28 989 个差异表达的单基因簇(unigene)。随着成熟期的接近,虽然上调差异基因和下调差异基因普遍在增加,但是下调差异基因的增加量要多于上调差异基因。II 阶段与 I 阶段相比,下调基因数为 9 899 个,上调基因数为 6 076 个;III 阶段与 I 阶段相比,下调基因数为 15 108 个,上调基因数为 4 792 个;III 阶段与 II 阶段相比,下调基因数为 11 967 个,上调基因数为 5 400 个(图 1)。随着果肉的发育,表达的基因逐渐增多,但是 III~II 阶段的差异基因数要低于 III~I 阶段的差异基因数。

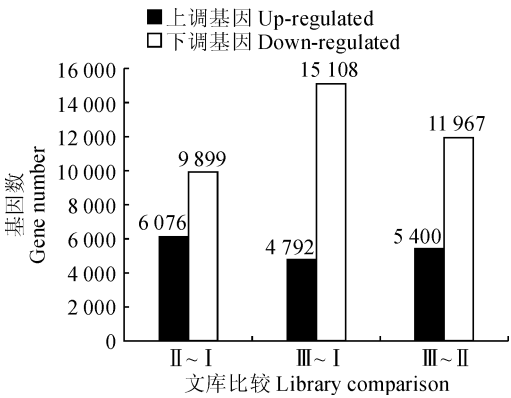
2.3 差异表达基因 KEGG pathway 的富集分析

利用 KEGG 数据库的参考 pathway 推测基因的功能及研究其在不同代谢通路中所在位置及作用是非模式物种中发掘功能基因的重要手段。本研究中,根据差异基因在 KEGG pathway 数据库中的富集分析,共检测出 2 283 条差异表达的单基因簇参与到 32 个显著差异的代谢通路中。根据 KEGG pathway 的富集统计结果,仅列出 3 个时期对比包含差异表达基因数最多的 10 条通路(表 2),共计 16 条代谢通路。其中,新陈代谢和次生代谢物合成是 3 个时期包含差异表达基因最多的 2 个大通路。而与淀粉蔗糖代谢相关的通路,仅在开花后 90 d 的果

肉中与前两个时期呈现显著表达差异,如表 2 所示,时期III与时期I相比,有 19 条单基因簇上调表达,53 条单基因簇下调表达;而时期III与时期II相比,有 23 条单基因簇上调表达,46 条单基因簇下调表达。

2.4 果肉中与糖合成代谢相关基因的表达模式分析

根据单基因簇的注释分析结合 KEGG pathway 富集统计结果,本研究共筛选出 5 个与仁用杏果肉中糖合成代谢相关的酶(表 3),其中包括蔗糖磷酸合成酶(sucrose-phosphate synthase, SPS)、蔗糖合成酶(sucrose synthase, SS)、中性蔗糖转化酶(neutral invertase, NI)、果糖激酶(fructokinase, FRK)和己糖激酶(hexokinase, HK)。其中,编码 SPS 有 3 条单基因簇,只有 1 条单基因簇在 III~II 呈下调表达,其余 2 条单基因簇的表达量均无明显变化;编码 SS 同样有 3 条单基因簇,在不同阶段有不同程度的表达,只有 1 条在 III~II 发育阶段呈上调表达,其余主要呈下调表达;在编码 NI 的 4 条单基因簇中,



I. 开花后 30 d; II. 开花后 60 d; III. 开花后 90 d。下同  
图 1 仁用杏果肉 3 个发育阶段差异表达基因统计  
I. 30 days after flowering; II. 60 days after flowering;  
III. 90 days after flowering; The same as below

Fig. 1 Quantifiable statistics of differential expression genes in three kernel apricot fruit developmental stages

表 1 仁用杏果肉 3 个发育时期转录本和单基因簇组装质量统计

长度范围 Length range/bp	转录本 Transcript		单基因簇 Unigene	
	数量 Number	百分比 Percentage/%	数量 Number	百分比 Percentage/%
200~400	30 332	46.27	27 693	52.99
400~800	12 131	18.51	9 210	17.62
800~2 000	15 102	23.04	10 086	19.30
2 000~3 000	5 284	8.06	3 550	6.79
>3 000	2 699	4.12	1 719	3.29

表 2 差异表达单基因簇的 KEGG pathway 富集分析

Table 2 KEGG pathway enrichment analysis of differential expression unigenes

KEGG 代谢通路 KEGG pathway	Ⅱ ~ Ⅰ		Ⅲ ~ Ⅰ		Ⅲ ~ Ⅱ	
	上调 Up	下调 Down	上调 Up	下调 Down	上调 Up	下调 Down
新陈代谢 Metabolic pathways	248	254	146	400	163	423
次生代谢物合成 Biosynthesis of secondary metabolites	127	141	90	209	92	220
核糖体 Ribosome	175	46	21	51	82	191
苯丙烷类生物合成 Phenylpropanoid biosynthesis	5	39	13	45	13	26
内质网蛋白质加工过程 Protein processing in endoplasmic reticulum	14	28	9	39	28	25
细胞色素 P450 的异物代谢 Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	5	10	2	24	33	2
氧化磷酸化 Oxidative phosphorylation	53	21	—	—	10	57
糖酵解途径 Glycolysis / Gluconeogenesis	46	19	—	—	8	60
微生物在不同环境中的代谢途径 Microbial metabolism in diverse environments	104	37	—	—	28	139
植物激素信号转导 Plant hormone signal transduction	—	—	23	79	17	57
植物病原菌的相互作用 Plant-pathogen interaction	—	—	17	79	21	61
淀粉蔗糖代谢 Starch and sucrose metabolism	—	—	19	53	23	46
剪接体 Spliceosome	9	16	6	27	—	—
光合作用中的碳固定 Carbon fixation in photosynthetic organisms	6	2	—	—	5	40
氨基酸生物合成 Biosynthesis of amino acids	52	35	—	—	—	—
嘌呤代谢 Purine metabolism	10	16	—	—	—	—

注：—，通路差异不显著  
Note: —, The pathway was not significant

表 3 仁用杏果肉糖代谢调控关键基因表达模式

Table 3 Key gene expression models of kernel-apricot sarcocarp in the sugar metabolism

基因 Gene	酶 Enzyme	单基因簇编号 Unigene code	预测位置 Predicted location	基因表达模式 Gene expression model		
				Ⅱ ~ Ⅰ	Ⅲ ~ Ⅰ	Ⅲ ~ Ⅱ
SPS	蔗糖磷酸酶 Sucrose-phosphate synthase	c31822_g1	—	—	—	D
		c49121_g1	—	—	—	—
		c34352_g3	—	—	—	—
SS	蔗糖合成酶 Sucrose synthase	c39108_g1	—	—	D	D
		c27184_g1	—	D	D	—
		c29581_g1	—	—	—	U
NI	中性蔗糖转化酶 Neutral invertase	c34317_g1	—	—	D	—
		c11860_g1	—	—	U	—
		c27280_g1	—	—	—	—
		c56480_g1	—	—	—	—
FRK	果糖激酶 Fructokinase	c24470_g1	—	—	U	—
		c21591_g1	C	—	U	—
		c6938_g1	—	—	—	—
		c33383_g1	—	—	—	—
		c39485_g1	C	—	—	—
HXK	己糖激酶 Hexokinase	c34492_g1	—	—	U	U
		c56527_g1	—	—	—	—
		c20086_g1	—	—	—	—
		c44152_g1	C	—	—	—

注：—，未检测到位置及基因表达差异无显著差异；C，叶绿体；U，上调；D，下调  
Note: —, The location had not been tested and gene expression level that had no significant differences; C, Chloroplast; U, Up-regulation; D, Down-regulation

有 2 条单基因簇在Ⅲ~Ⅰ发育阶段呈现完全相反的表达模式。此外,在编码 FRK 和 HXK 的 5 条和 4 条单基因簇中,分别只有 2 条和 1 条单基因簇在果肉成熟过程中表达量上升。根据单基因簇注释结果,仅有编码 FRK 的 2 条单基因簇和编码 HXK 的 1 条单基因簇被预测到表达部位(表 3)。

2.5 果肉中与有机酸合成代谢相关基因的表达模式分析

本研究共筛选出 15 个酶调控仁用杏果肉中有机酸的合成代谢(表 4)。其中包括 8 种与苹果酸合成、柠檬酸循环相关的酶,分别是:琥珀酰辅酶 A 连接酶(succinyl CoA ligase, SCoAL)、 $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶复合体(2-oxoglutarate dehydrogenase complex, 2-OGDH)、琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)、苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)、苹果酸酶(malic enzyme, ME)、异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)、柠檬酸合酶(citrate synthase, CS)和磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK); 7 种与上述两种酸代谢原料供应相关的酶,分别是:丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)、丙酮酸脱氢酶复合体(pyruvate dehydrogenase complex, PDH)、谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GDH)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD)、谷氨酰胺合成酶(glutamine

synthetase, GS)和磷酸烯醇丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)。

Ⅱ阶段与Ⅰ阶段相比,仅有编码 5 种酶的 5 条单基因簇出现差异表达,其中编码 1 种酶的 1 条单基因簇出现上调表达(PDH),编码 4 种酶的 4 条单基因簇出现下调表达(SDH、MDH、PEPCK 和 GDH)。Ⅲ阶段与Ⅰ阶段相比,共有编码 12 种酶的 23 条单基因簇出现差异表达,其中编码 8 种酶的 12 条单基因簇出现上调表达(2-OGDH、MDH、IDH、CS、PK、PDH、AST 和 GAD),编码 6 种酶的 11 条单基因簇出现下调表达(MDH、ME、PEPCK、PK、GS 和 PEPC)。Ⅲ阶段与Ⅱ阶段相比,共有编码 13 种酶的 22 条单基因簇出现差异表达,其中共编码 9 种酶的 17 条单基因簇出现上调表达(2-OGDH、SDH、MDH、IDH、CS、PK、PDH、GDH 和 GAD),共编码 6 种酶的 8 种单基因簇出现下调表达(MDH、ME、PEPCK、PK、GS 和 PEPC)。在Ⅲ~Ⅰ和Ⅲ~Ⅱ的基因表达对比中,编码 MDH 和 PK 的单基因簇中,既有上调表达的单基因簇,也有下调表达的单基因簇。

根据单基因簇的注释结果,共有编码 6 个酶的 10 条单基因簇被预测在叶绿体中表达;编码 6 个酶的 12 条单基因簇在线粒体中表达;编码 3 个酶的 6 条单基因簇在细胞质中表达;26 条单基因簇未预测出表达部位(表 4)。

表 4 仁用杏果肉酸代谢调控关键基因表达模式

Table 4 Key gene expression models of kernel-apricot sarcocarp in the acid metabolism

基因 Gene	酶 Enzyme	单基因 簇编号 Unigene code	预测位置 Predicted location	基因表达模式 Gene expression model		
				Ⅱ~Ⅰ	Ⅲ~Ⅰ	Ⅲ~Ⅱ
SCoAL	琥珀酰辅酶 A 连接酶 Succinyl CoA ligase	c30486_g2	C	—	—	—
2-OGDH	$\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶复合体 2-Oxoglutarate dehydrogenase complex	c31408_g1	M	—	U	U
		c24622_g1	M	D	—	U
SDH	琥珀酸脱氢酶 Succinate dehydrogenase	c43306_g1	M	—	—	U
		c30083_g1	M	—	U	U
		c31831_g1	C	—	U	U
		c16125_g1	M	—	U	U
		c57243_g1	C	D	D	U
MDH	苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	c57025_g1	C	—	D	D
		c51112_g1	cyto	—	—	—
		c4649_g1	—	—	—	—
		c11320_g1	—	—	—	—

续表 4 Continued Table 4						
基因 Gene	酶 Enzyme	单基因 簇编号 Unigene code	预测位置 Predicted location	基因表达模式 Gene expression model		
				Ⅱ ~ Ⅰ	Ⅲ ~ Ⅰ	Ⅲ ~ Ⅱ
ME	苹果酸酶 Malic enzyme	c19661_g5	—	—	D	D
		c19661_g4	—	—	D	D
		c19661_g3	—	—	D	D
		c30995_g1	M	—	—	—
		c30228_g1	M	—	—	—
		c39062_g1	—	—	—	—
IDH	异柠檬酸脱氢酶(NADP <sup>+</sup> ) Isocitrate dehydrogenase(NADP <sup>+</sup> )	c39486_g1	—	—	U	U
		c34868_g1	—	—	—	—
PEPCK	磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 Phosphoenolpyruvate carboxykinase	c28775_g1	—	D	D	D
PEPC	磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 Phosphoenolpyruvate carboxylase	c32226_g1	—	—	D	D
		c22822_g1	—	—	—	—
		c56929_g1	—	—	—	—
CS	柠檬酸合成酶 Citrate synthase	c32582_g1	—	—	U	U
		c27308_g1	—	—	—	—
		c17732_g1	—	—	—	—
		c14373_g1	—	—	—	—
		c29665_g1	—	—	—	—
PK	丙酮酸激酶 Pyruvate kinase	c30902_g1	cyto	—	—	U
		c33331_g1	cyto	—	D	D
		c30902_g2	cyto	—	D	—
		c23501_g1	C	—	U	—
		c33152_g1	C	—	—	—
		c28412_g1	C	—	—	—
		c52418_g1	cyto	—	—	—
PDH	丙酮酸脱氢酶复合体 Pyruvate dehydrogenase complex	c47593_g1	M	U	U	U
		c34897_g1	C	—	U	—
		c29501_g1	M	—	—	—
		c56183_g1	M	—	—	—
		c28670_g1	M	—	—	—
		c30293_g1	M	—	—	—
GDH	谷氨酸脱氢酶 Glutamate dehydrogenase	c22531_g1	—	D	—	U
		c22874_g1	—	—	—	—
AST	天冬氨酸氨基转移酶 Aspartate aminotransferase	c32672_g1	M	—	U	—
		c30589_g1	cyto	—	—	—
		c27652_g1	C	—	—	—
GAD	谷氨酸脱羧酶 Glutamate decarboxylase	c708_g1	—	—	U	U
		c708_g2	—	—	U	U
		c33886_g1	—	—	—	—
		c8641_g1	—	—	—	—
GS	谷氨酰胺合成酶 Glutamine synthetase	c22007_g1	C	—	D	D
		c49105_g1	—	—	D	—

注: cyto. 细胞质; M. 线粒体; C. 叶绿体; U. 上调; D. 下调

Notes: cyto. Cytoplasm; M. Mitochondria; C. Chloroplast; U. Up-regulation; D. Down-regulation

### 3 讨 论

本研究通过对处于 3 个发育阶段的仁用杏果肉进行转录组测序,通过对单基因簇进行注释,共筛选出 19 条单基因簇编码的 5 个糖代谢调控酶以及 54 条单基因簇编码的 15 个酸代谢调控酶。

在糖代谢途径中,SPS 是光合产物转化为蔗糖的调控点,是蔗糖合成的限速酶,而 SS 同样与蔗糖合成呈正相关<sup>[13-14]</sup>。陈美霞等<sup>[15]</sup>的研究显示,杏果实中总糖含量的上升主要是由蔗糖引起的。而在本研究中,编码 SPS 和 SS 的单基因簇中共有 4 条差异表达,除编码 SS 的一条单基因簇呈上调表达外,其余差异表达的单基因簇均呈下调表达,因此推测蔗糖的合成在仁用杏果肉发育过程中受到抑制,这与鲜食杏中的表达规律恰好相反<sup>[16]</sup>。FPK 和 HXK 能够催化糖酵解途径中不可逆反应<sup>[17]</sup>,在编码二者的 3 条差异表达单基因簇均随果肉成熟表达量上升,因此推测仁用杏果肉的在成熟过程中,分解葡萄糖的糖酵解过程受到促进。此外,本研究共挖掘出 4 条编码 NI 的同源序列,但并没有挖掘出在番茄、甘蔗等糖代谢中编码酸性转化酶(acid invertase, AI)的相关序列<sup>[18]</sup>,可能是仁用杏果肉蔗糖积累机制与其他植物的糖代谢途径存在一定程度的差异,但也可能是编码 AI 的基因表达丰度低,在本研究中未被检测或注释到。虽然两种酶的具体作用机制都没有被彻底证实,但有研究表明,两种酶协同作用下可调节蔗糖在生物体内的分配<sup>[19]</sup>,更有研究表明两种酶系统的基因冗余情况可能会因物种不同而存在差异,从而影响蔗糖分配及转化<sup>[20]</sup>。

在酸代谢途径中,CS 与柠檬酸积累呈正相关,

在本研究中编码 CS 的单基因簇只有 1 条出现明显的上调表达,但在槿柑果肉发育过程中没有发现明显差异表达;而编码 SCoAL 的单基因簇在槿柑果肉发育中存在差异表达<sup>[21]</sup>,在仁用杏果肉发育中却没发生差异表达。MDH 具有可逆地催化苹果酸分解为草酰乙酸的作用,而草酰乙酸是合成柠檬酸的重要原料,但有研究表明 MDH 更倾向于合成苹果酸<sup>[15,22]</sup>。在本研究中编码 MDH 的单基因簇中,有 3 条出现上调表达,2 条出现下调表达,说明该酶在苹果酸-柠檬酸转化中具有重要的协调作用。前人的研究表明,在杏果实的不同发育阶段,果肉中的有机酸主要为始终处于较高分布水平的苹果酸<sup>[23-24]</sup>。而在本研究中,编码 PEPC 的 1 条单基因簇和编码 ME 的 3 条单基因簇在Ⅲ~Ⅰ和Ⅲ~Ⅱ阶段均呈下调表达模式,前者能够促使合成草酰乙酸<sup>[25]</sup>,后者能够促使苹果酸分解为丙酮酸<sup>[26]</sup>,这种下调表达模式说明在仁用杏果肉中应该更倾向于积累苹果酸,而不是柠檬酸。

综上,在仁用杏果肉 3 个发育阶段中,与糖合成积累机制相关的调控酶主要呈下调表达,与糖分解相关的调控酶呈上调表达;而在酸代谢途径中,与酸积累相关的调控酶主要呈上调表达,由此推断仁用杏果肉在发育中糖积累受阻,而有机酸却得到了大量的合成与积累,这可能是造成仁用杏果肉糖酸比例小,鲜食口感不佳的因素之一。本研究获得的大量仁用杏糖酸代谢调控酶的表达模式,揭示了仁用杏果肉不同发育阶段的转录组特征,为后续针对性研究调节仁用杏果肉中糖酸合成代谢的相关基因,提高仁用杏果肉中的糖酸比奠定了基础。

### 参考文献:

[1] BECKLES D M. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2012, **63**(1): 129-140.

[2] SCHOUTEN R E, WOLTERING E J, TIJSKENS L M M. Sugar and acid interconversion in tomato fruits based on biopsy sampling of locule gel and pericarp tissue[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 111: 83-92.

[3] 张宗舟,张 扬,陈志梅. 仁用杏果肉调味酱生产技术研究[J]. 中国酿造,2010, **29**(7):146-148.

[4] ZHANG Z Z, ZHANG Y, CHEN Z M. Processing technology of almond-apricot paste[J]. *China Brewing*, 2010, **29**(7):146-148.

[5] 刘耀玺,李志西. 仁用杏果肉酿醋技术及其醋酸饮料的研制[J]. 食品研究与开发,2012, **33**(7):71-76.

[6] LIU Y X, LI Z X. Study on the brewing techniques of apricot for kernel flesh vinegar and its acetic acid drink[J]. *Food Research and Development*, 2012, **33**(7):71-76.

[7] 王西成,吴伟民,赵密珍,等. NAA 对葡萄果实中糖酸含量及相关基因表达的影响[J]. 园艺学报,2015, **42**(3):425-434.

[8] WANG X C, WU W M, ZHAO M Z, et al. Effect of NAA treatment on sugar acid content and related gene expression in grape berries[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, **42**(3): 425-434.

[9] 费 元,韩 雪,余 红,等. 大岩桐花萼和幼叶转录组研究

- [J]. 园艺学报, 2015, **42**(12): 2 519-2 525.
- FEI Y, HAN X, YU H, *et al.* Sequencing and characterization of transcriptome of *Sinningia speciosa* sepals and young leaves[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, **42**(12): 2 519-2 525.
- [7] KOU M, XU J, LI Q, *et al.* Development of SNP markers using RNA-Seq technology and tetra-primer ARMS-PCR in sweetpotato[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2017, **16**(2): 464-470.
- [8] XU F, WANG H, TANG Y, *et al.* Effect of 1-methylcyclopropene on senescence and sugar metabolism in harvested broccoli florets[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, **116**: 45-49.
- [9] HU L, WU G, HAO C, *et al.* Transcriptome and selected metabolite analyses reveal points of sugar metabolism in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) [J]. *Plant Science*, 2016, **248**: 45-56.
- [10] GRABHERR M G, HAAS B J, YASSOUR M, *et al.* Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome[J]. *Nature Biotechnology*, 2011, **29**(7): 644-652.
- [11] MORTAZAVI A, WILLIAMS B A, MCCUE K, *et al.* Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq[J]. *Nature Methods*, 2008, **5**(7): 621-628.
- [12] WANG L, FENG Z, WANG X, *et al.* DEGseq: an R package for identifying differentially expressed genes from RNA-seq data[J]. *Bioinformatics*, 2010, **26**(1): 136-138.
- [13] 李付鹏, 秦晓威, 伍宝朵, 等. 可可蔗糖磷酸合成酶基因家族进化及组织表达分析[J]. 热带作物学报, 2015, **36**(9): 1 608-1 613.
- LI F P, QIN X W, WU B D, *et al.* Phylogeny and expression profile of the sucrose phosphate synthase gene family in cacao (*Theobroma cacao* L.) [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2015, **36**(9): 1 608-1 613.
- [14] 贾春平, 耿洪伟, 朱亚夫, 等. 海岛棉蔗糖合成酶基因克隆及生物信息学和表达模式分析[J]. 分子植物育种, 2016, **14**(2): 286-301.
- JIA C P, GENG H W, ZHU Y F, *et al.* Cloning between bioinformatics and expression pattern analysis of sucrose synthase in island cotton (*Gossypium barbadense* L.) [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, **14**(2): 286-301.
- [15] 陈美霞, 陈学森, 慈志娟, 等. 杏果实糖酸组成及其不同发育阶段的变化[J]. 园艺学报, 2006, **33**(4): 805-808.
- CHEN M X, CHEN X S, CI Z J, *et al.* Changes of sugar and acid constituents in apricot during fruit development[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, **33**(4): 805-808.
- [16] 陈美霞, 赵从凯, 徐永芳, 等. 杏果实苹果酸脱氢酶基因克隆及定量表达分析[J]. 潍坊高等职业教育, 2015, **11**(4): 30-35.
- CHEN M X, ZHAO C K, XU Y F, *et al.* Cloning and expression of malate dehydrogenase gene in apricot fruits[J]. *Weifang Higher Vocational Education*, 2015, **11**(4): 30-35.
- [17] PEREZ-CENZIM, SALERNO L. Functional characterization of synechococcus amylosucrase and fructokinase encoding genes discovers two novel actors on the stage of cyanobacterial sucrose metabolism[J]. *Plant Science*, 2014, **224**: 95-102.
- [18] CHEN C, YUAN Y, ZHANG C, *et al.* Sucrose phloem unloading follows an apoplastic pathway with high sucrose synthase in *Actinidia* fruit[J]. *Plant Science*, 2017, **255**: 40-50.
- [19] DONG Y, DUAN W, HE H, *et al.* Enhancing taxane biosynthesis in cell suspension culture of *Taxus chinensis* by overexpressing the neutral/alkaline invertase gene [J]. *Process Biochemistry*, 2015, **50**(4): 651-660.
- [20] VARGAS W A, SALERNO G L. The Cinderella story of sucrose hydrolysis: alkaline/neutral invertases, from cyanobacteria to unforeseen roles in plant cytosol and organelles[J]. *Plant Science*, 2010, **178**(1): 1-8.
- [21] LIN Q, WANG C, DONG W, *et al.* Transcriptome and metabolome analyses of sugar and organic acid metabolism in Ponkan (*Citrus reticulata*) fruit during fruit maturation[J]. *Gene*, 2015, **554**(1): 64-74.
- [22] YAO Y X, LI M, ZHAI H, *et al.* Isolation and characterization of an apple cytosolic malate dehydrogenase gene reveal its function in malate synthesis[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, **168**(5): 474-480.
- [23] 尹奇, 全征, 贺庭琪, 等. 木薯苹果酸脱氢酶基因克隆和表达分析[J]. 热带作物学报, 2013, **34**(6): 1 082-1 089.
- YIN Q, TONG Z, HE T Q, *et al.* Cloning and expression analysis of malate dehydrogenase gene from cassava[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2013, **34**(6): 1 082-1 089.
- [24] 王海波, 杨建明, 李慧峰, 等. 珍珠油杏果实糖酸组分的高效液相色谱分析[J]. 山东农业科学, 2011, **5**: 102-104.
- WANG H B, YANG J M, LI H F, *et al.* Analysis of sugars and organic acids in fruits of Zhenzhuyouxing apricot by high performance liquid chromatography[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2011, **5**: 102-104.
- [25] WALKER R P, PAOLETTI A, LEEGOOD R C, *et al.* Phosphorylation of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) and phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) in the flesh of fruits[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, **108**: 323-327.
- [26] 董庆龙, 王海荣, 安森, 等. 苹果 NADP 依赖的苹果酸酶基因克隆、序列和表达分析[J]. 中国农业科学, 2013, **46**(9): 1 857-1 866.
- DONG Q L, WANG H R, AN M, *et al.* Cloning, sequence and expression analysis of NADE-malic enzyme genes in apple[J]. *Scientia Agricultural Sinica*, 2013, **46**(9): 1 857-1 866.

(编辑: 宋亚珍)