



分子植物育种

*Molecular Plant Breeding*

ISSN 1672-416X, CN 46-1068/S

## 《分子植物育种》网络首发论文

题目: 猕猴桃果肉颜色性状基因及其 EST-SSR 标记发掘  
作者: 孙淑霞, 涂美艳, 李靖, 陈栋, 宋海岩, 徐子鸿, 廖明安, 李明章, 江国良  
网络首发日期: 2022-03-01  
引用格式: 孙淑霞, 涂美艳, 李靖, 陈栋, 宋海岩, 徐子鸿, 廖明安, 李明章, 江国良. 猕猴桃果肉颜色性状基因及其 EST-SSR 标记发掘[J/OL]. 分子植物育种.  
<https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220228.1121.006.html>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 研究报告

## Research Report

# 猕猴桃果肉颜色性状基因及其 EST-SSR 标记发掘

孙淑霞<sup>1\*</sup> 涂美艳<sup>1,2\*</sup> 李靖<sup>1</sup> 陈栋<sup>1</sup> 宋海岩<sup>1,2</sup> 徐子鸿<sup>1,2</sup> 廖明安<sup>2</sup> 李明章<sup>3</sup> 江国良<sup>1\*\*</sup>

1 四川省农业科学院园艺研究所, 农业农村部西南地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 成都, 610066; 2 四川农业大学园艺学院, 成都, 611130; 3 四川省自然资源科学研究院猕猴桃研究所, 成都, 610015

\* 同等贡献作者

\*\* 通信作者, [jgl22@hotmail.com](mailto:jgl22@hotmail.com)

**摘要** 果肉颜色是猕猴桃重要的品质性状, 不同果肉颜色的猕猴桃在色素成分、糖和维生素 C 含量等方面存在很大差异。为了探究猕猴桃果肉颜色形成的分子机制, 本研究以红肉猕猴桃‘红实 2 号’和黄肉猕猴桃‘金实 1 号’为研究对象, 采用 RNA-seq 技术, 通过分析果实不同时期不同部位的转录组表达差异, 发现编码花青素合成的 *Achn385311* (*3GGT*) 基因可能是控制‘红实 2 号’内果皮呈红色的主效基因, ‘金实 1 号’后期果肉呈深黄色可能与 *Achn158981* (*GT7*)、*Achn150731*、*Achn068721* (*PAO*)、*Achn282201* (*PAO*) 和 *Achn176251* (*UGT71A16*) 等基因有关。针对差异表达的 230 个猕猴桃果肉颜色相关基因, 利用 Premier 5.0 设计出 727 对 EST-SSR 引物, 以 7 份不同果肉颜色的猕猴桃基因组 DNA 为模板, 随机选择 112 对引物进行有效性验证, 筛选出了具有清晰的扩增产物的引物 78 对, 有效扩增率为 69.64%, 58 对具有多态性, 多态性频率为 74.36%。本研究作为猕猴桃果实呈色机理研究及分子标记辅助育种提供了理论基础。

**关键词** 猕猴桃; 转录组; 花青素; 类胡萝卜素; EST-SSR

## Development of Genes and EST-SSR Markers of Kiwifruit with Different Flesh Color

Sun Shuxia<sup>1\*</sup> Tu Meiyang<sup>1,2\*</sup> Li Jing<sup>1</sup> Chen Dong<sup>1</sup> Song Haiyan<sup>1,2</sup> Xu Zihong<sup>1,2</sup> Liao Ming'an<sup>2</sup>  
Li Mingzhang<sup>3</sup> Jiang Guoliang<sup>1\*\*</sup>

1 Key Laboratory of Horticultural Crop Biology and Germplasm Creation in Southwestern China of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Horticulture Research Institute of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, 610066; 2 College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130; 3 Kiwifruit Research Institute, Sichuan Academy of Natural Resources Science, Chengdu, 610015

\* These authors contributed equally to this work

\*\* Corresponding author, [jgl22@hotmail.com](mailto:jgl22@hotmail.com)

**Abstracts** Sarcocarp color is an important quality trait of kiwifruit fruit. Kiwifruit fruit with different sarcocarp colors have great differences in pigment composition, sugar and vitamin C content. We performed comparative transcriptome analysis of ‘Jinshi1’ and ‘Hongshi2’ sarcocarp, and developed EST-SSR marker based on the differential expressed genes. Results showed that *Achn385311* (*3GGT*) might be the major gene for the red endocarp of ‘Hongshi2’, while the genes such as *Achn158981* (*GT7*), *Achn150731*, *Achn068721* (*PAO*),

*Achn282201 (PAO)* and *Achn176251 (UGT71A16)* might be related to the deep golden sarcocarp of 'Jinshi1'. Based on the 230 differential expressed genes, we designed 727 EST-SSR primers, and 112 of them were randomly selected for validation. Results showed the effective amplification rate reached to 69.64% and polymorphism rate reached to 74.36%. The identification of sarcocarp color related genes and related molecular marker development would provided a theoretical basis for the study of kiwifruit flesh color and molecular marker-assisted breeding.

**Keywords** Kiwifruit; RNA-seq; Anthocyanin; Carotenoids; EST-SSR

猕猴桃为猕猴桃科(*Actinidiaceae*)猕猴桃属(*Actinidia* Lindl.)植物, 中国是世界猕猴桃属植物的起源和分布中心, 蕴藏着丰富的野生资源。鲜艳的色彩可促进食欲, 猕猴桃果肉颜色丰富, 在不同物种间及种内存在着广泛变异(黄宏文, 2013, 科学出版社, pp.233-257)。目前, 果肉颜色被视为猕猴桃重要经济性状评价指标之一, 受到育种者和消费者普遍关注。全球主栽品种主要以黄肉、红肉和绿肉猕猴桃为主, 早在上世纪 90 年代前, 世界猕猴桃主栽品种仅有 'Hayward' 为代表的绿肉品种, 随着 1991 年新西兰杂交选育出黄肉品种 'Hort16A' 和 1997 年四川实生选育出首个红肉品种 '红阳' 后, 猕猴桃栽培品种的果肉颜色逐渐丰富起来 (Brevik et al., 2011)。叶绿素、类胡萝卜素和花青素是影响猕猴桃果肉呈色最主要的 3 种色素。现有研究表明, 猕猴桃果肉呈现绿色是因为成熟果实中的叶绿体未被破坏, 叶绿素未被降解、不能转化成有色体(Huang et al., 2004); 黄肉猕猴桃品种(如 '金实 1 号')的果肉在果实生长发育初期是绿色的, 成熟过程中由于叶绿素的逐渐降解, 而类胡萝卜素颜色显现造成(Xia et al., 2021); 红肉猕猴桃品种内果皮显示红色则是花青素在基因型和环境条件综合影响后的结果(Montefiori et al., 2005)。

黄肉猕猴桃果肉颜色与果肉中类胡萝卜素含量相关。黄肉猕猴桃果实中含有高水平的类胡萝卜素混合物, 采用 MCS 技术进行改善 '海沃德' 猕猴桃中的类胡萝卜素含量, 通过对 *GGPS*、*PDS*、*ZDS*、*CHX* 和 *PSY* 等基因研究, 发现 *GGPS* 和 *PSY* 基因可能是增加猕猴桃类胡萝卜素含量的主要目标基因(Kim et al., 2010)。对猕猴桃 MYB7 转录因子的功能进行了探讨, 发现其能够激活番茄红素  $\beta$ -环化酶(*AdLCY- $\beta$* )基因的启动子, 从而在类胡萝卜素生物合成途径中起关键作用(Ampomah-Dwamena et al., 2018)。此外, 猕猴桃中类胡萝卜素的差异也可能是由于 *LCY- $\beta$*  基因表达的差异或是酶促反应差异造成的(高洁等, 2013)。

红肉猕猴桃主要是由于内果皮花青素积累, 而花青素在绿肉和黄肉猕猴桃中均未被发现(Montefiori et al., 2009)。合成花青素主要是两类基因, 一类是编码花青素合成酶的结构基因, 另一类是调控结构基因表达丰度的调节基因(庄维兵等, 2018)。目前在猕猴桃中克隆的合成花青素的结构基因有 *CHS*、*DFR*、*F3H*、*F3GT1* 和 *F3GGT1* 等(杨红丽等, 2009; 杨俊等, 2010; Montefiori et al., 2011; 张亮等, 2012), 而关于调节基因的报道较少, 包括转录因子 *AcMYB10* 和 *AdGL3* 等(李文彬等, 2014; 2015)。

猕猴桃果肉颜色的形成是一个复杂的过程, 不管是黄肉猕猴桃还是红肉猕猴桃, 其果色形成都是由多基因调控的过程, 尽管目前已经有部分相关基因被克隆, 但是猕猴桃果色差异机理依然不清楚。本研究以红肉猕猴桃 '红实 2 号' 和黄肉猕猴桃 '金实 1 号' 为供试材料, 通过转录组测序, 对比两个品种在不同发育时期不同果肉部位色素相关表达差异基因, 以期挖掘出影响猕猴桃色素合成的关键基因, 开发相应分子标记, 为猕猴桃果肉颜色呈色机制研究及分子标记辅助育种提供理论基础。

## 1 结果与分析

### 1.1 两个猕猴桃品种 T1 和 T3 时期特异表达基因分析

根据本课题组前期对两个猕猴桃品种果皮发育时期形态学观察发现,两品种在发育早期(T1 期)果肉的形态学较为接近,均为内果皮淡绿白色,中果皮呈红色,但是到了 T3 期发生了明显变化,其中‘红实 2 号’内果皮开始着红色,中果皮保持绿色,‘金实 1 号’内果皮和中果皮均为黄色,说明 T3 时期为两种猕猴桃果肉颜色出现逆转的关键时期(涂美艳等, 2019a; 2019b)。因此,对两个品种内果皮与中果皮的 T1 和 T3 时期的差异基因进行分析。结果显示,在内果皮中,两品种相同表达基因有 359 个,但 T1、T3 时期两品种间分别有 1 397、623 个基因是特异表达(图 1A);在中果皮中,两品种相同表达基因有 432 个,但 T1、T3 时期两品种间分别有 1 037、1 394 个基因是属于特异表达(图 1B)。

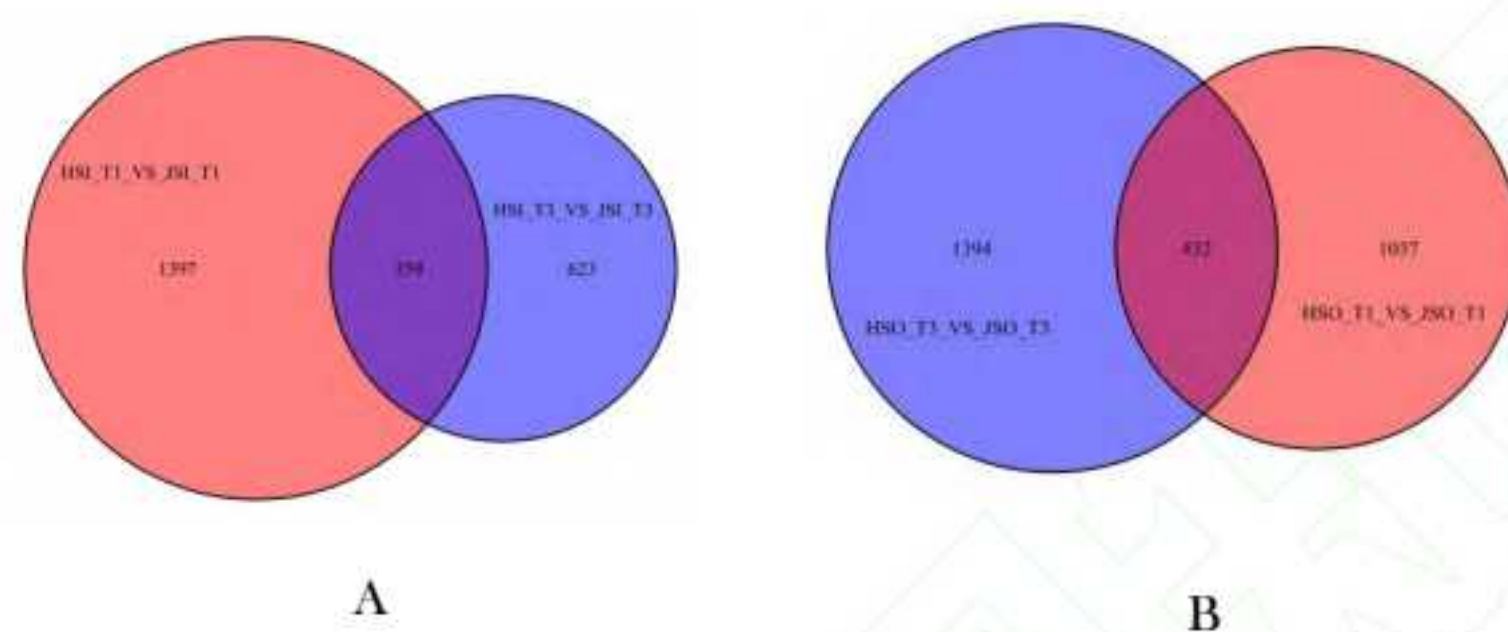


图 1‘红实 2 号’和‘金实 1 号’两个发育关键期中果皮与内果皮显著差异基因统计

注: A: 内果皮差异基因统计结果; HSI: ‘红实 2 号’内果皮; JSI: ‘金实 1 号’内果皮; B: 中果皮差异基因统计结果; HSO: ‘红实 2 号’外果皮; JSO: ‘金实 1 号’外果皮; T1: 花后 0 d; T3: ‘红实 2 号’花后 75 d 和‘金实 1 号’花后 81 d

Figure 1 Gene statistics of significant differences between sarcocarp and endocarp in two critical developmental stages of ‘Hongshi2’ and ‘Jinshi1’

Note: A: The result of endocarp differential gene statistics; HSI: The endocarp of ‘Hongshi2’; JSI: The endocarp of ‘Jinshi1’; B: The result of sarcocarp differential gene statistics; HSO: The exocarp of ‘Hongshi2’; JSO: The exocarp of ‘Jinshi1’; T1: 0 d after flowering; T3: 75 d after flowering for ‘Hongshi2’ and 81 d after flowering for ‘Jinshi1’

### 1.2 两个猕猴桃品种 T3 时期特异表达基因的 KEGG 富集分析

分别对两个品种 T3 时期不同部位鉴定的特异差异基因进行 KEGG 富集分析(图 1)。在内果皮中, 623 个差异基因被富集到 73 个不同的通路中(图 2), 其中 10 个通路属于显著富集( $P < 0.05$ ) (表 1), 分别为: 戊糖和葡萄糖醛酸盐相互转化(174, 2.35%)、二萜类生物合成(66, 0.89%)、玉米素生物合成(40, 0.54%)、淀粉与蔗糖代谢(337, 4.54%)、苯丙烷类生物合成(209, 2.82%)、芪类、二苯基庚烷类和姜辣素的生物合成(56, 0.76%)、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成(58, 0.78%)、类黄酮生物合成(88, 1.19%)、酪氨酸代谢(66, 0.89%) 和花青素生物合成(16, 0.22%)。上述结果表明, 类黄酮生物合成和花青素生物合成途径中的基因可能参与了猕猴桃内果皮颜色调控。

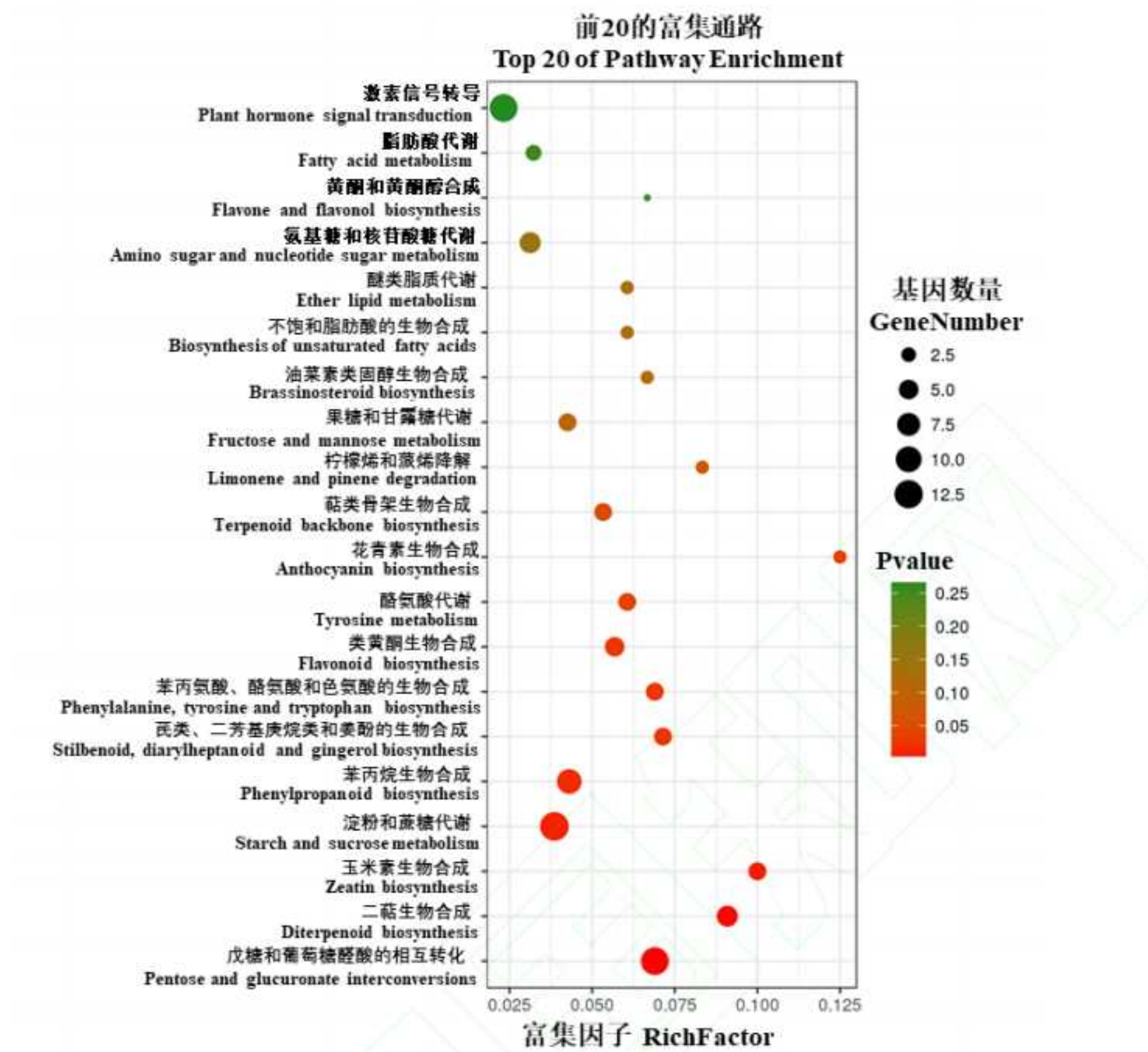


图 2 T3 时期两品种内果皮特异基因的富集通路图

Figure 2 Pathway map of endocarp-specific genes in T3 stage

表 1 T3 时期内果皮显著通路

Table 1 Significant pathways of endocarp in T3 stage

通路	差异表达基因数量	基因总数	P 值
Pathway	DEGs	Total number of genes	P value
戊糖和葡萄糖醛酸盐相互转化	12	174	0.000 102
Pentose and glucuronate interconversions			
二萜类生物合成	6	66	0.001 456
Diterpenoid biosynthesis			
玉米素生物合成	4	40	0.006 563
Zeatin biosynthesis			
淀粉与蔗糖的代谢	13	337	0.010 951
Starch and sucrose metabolism			
苯丙烷类生物合成	9	209	0.017 152
10Phenylpropanoid biosynthesis			

芪类, 二苯基庚烷类和姜辣素的生物合成	4	56	0.020 940
Stilbenoid, diarylheptanoid and gingerol biosynthesis			
苯丙氨酸, 酪氨酸和色氨酸生物合成	4	58	0.023 505
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis			
类黄酮生物合成	5	88	0.025 054
Flavonoid biosynthesis			
酪氨酸代谢	4	66	0.035 615
Tyrosine metabolism			
花青素生物合成	2	16	0.035 707
Anthocyanin biosynthesis			
合计	140	7 417	-
Total			

注:  $P < 0.05$  表示两个品种在 T3 时期存在显著性差异

Note:  $P < 0.05$  indicates that there are significant differences between the two varieties in T3 stage

在中果皮中, 1 394 个差异基因被富集到 105 个不同的通路中(图 3), 其中 16 个通路属于显著富集 ( $P < 0.05$ ) (表 2), 分别是: 类黄酮生物合成(88, 1.19%)、芪类、二苯基庚烷类和姜辣素的生物合成(56, 0.76%)、苯丙氨酸代谢(69, 0.93%)、芳香族化合物的降解(10, 0.13%)、半胱氨酸和蛋氨酸代谢(145, 1.95%)、蛋白质外排(60, 0.81%)、柠檬烯和蒎烯降解(24, 0.32%)、黄酮和黄酮醇生物合成(15, 0.20%)、玉米素生物合成(40, 0.54%)、花青素生物合成(16, 0.22%)、植物激素信号转导(517, 6.97%)、硫代谢(43, 0.58%)、油菜素类固醇生物合成(30, 0.40%)、丙酸代谢(44, 0.59%)、 $\alpha$ -亚麻酸代谢(59, 0.79%)和苯丙烷类生物合成(209, 2.82%)。上述结果表明, 类黄酮生物合成和花青素生物合成途径中的基因可能参与了猕猴桃中果皮颜色调控。

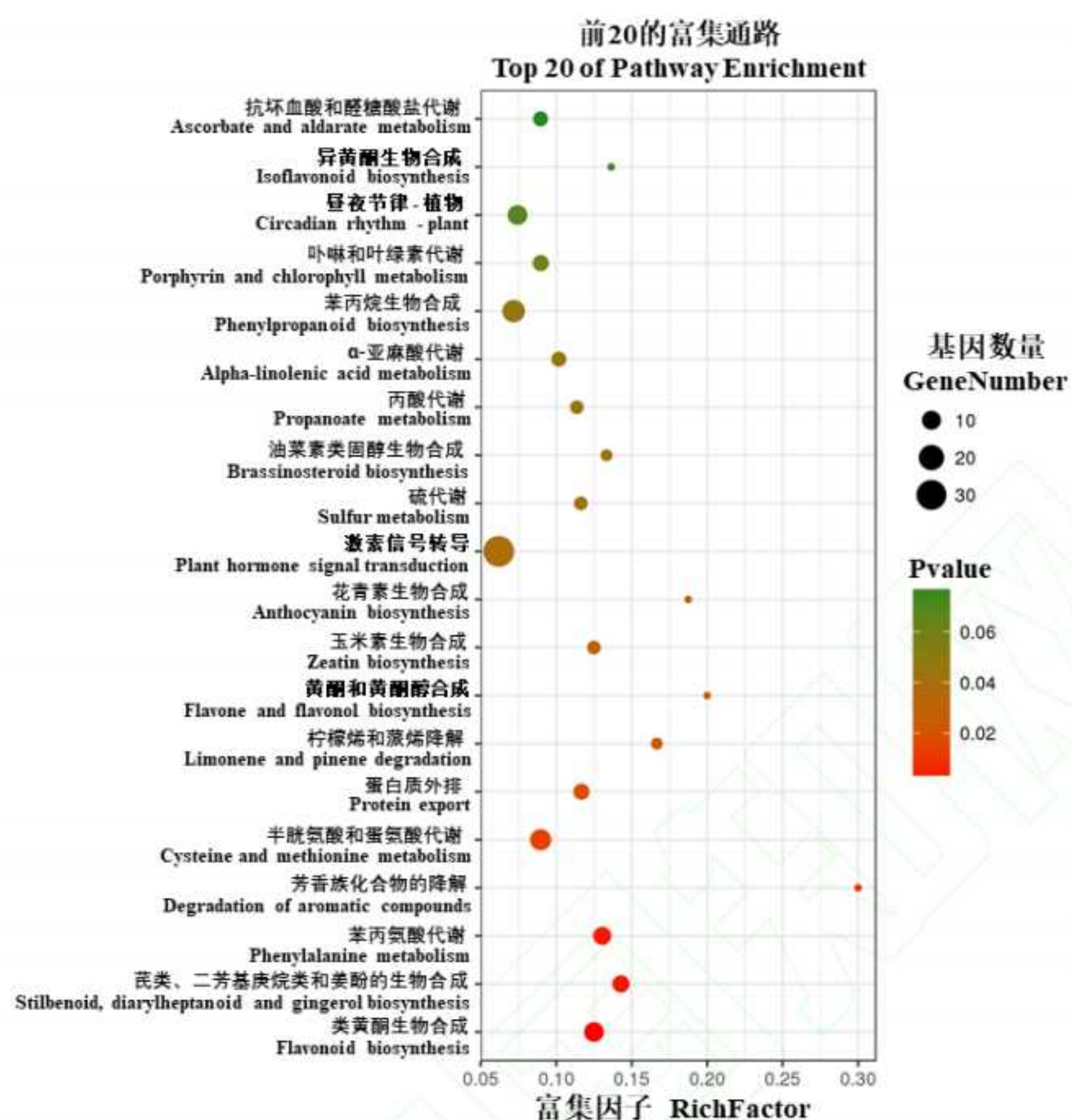


图 3 T3 时期两品种中果皮特异基因的富集通路图

Figure 3 Pathway map of sarcocarp-specific genes in T3 stage

表 2 T3 时期中果皮显著通路

Table 2 Significant pathways of sarcocarp in T3 stage

通路	差异表达基因数量	基因总数	P 值
Pathway	DGEs	Total number of genes	P value
类黄酮生物合成	11	88	0.001 827
Flavonoid biosynthesis			
芪类、二苯基庚烷类和姜辣素的生物合成	8	56	0.003 272
Stilbenoid, diarylheptanoid and gingerol biosynthesis			
苯丙氨酸代谢	9	69	0.003 489
Phenylalanine metabolism			
芳香族化合物的降解	3	10	0.008 503
Degradation of aromatic compounds			
半胱氨酸和蛋氨酸代谢	13	145	0.013 150
Cysteine and methionine metabolism			

蛋白质排出	7	60	0.017 254
Protein export			
柠檬烯和蒎烯降解	4	24	0.020 811
Limonene and pinene degradation			
黄酮和黄酮醇生物合成	3	15	0.027 302
Flavone and flavonol biosynthesis			
玉米素生物合成	5	40	0.032 089
Zeatin biosynthesis			
花青素生物合成	3	16	0.032 512
Anthocyanin biosynthesis			
植物激素信号转导	32	517	0.038 479
Plant hormone signal transduction			
硫代谢	5	43	0.042 139
Sulfur metabolism			
油菜素类固醇生物合成	4	30	0.043 543
Brassinosteroid biosynthesis			
丙酸代谢	5	44	0.045 865
Propanoate metabolism			
$\alpha$ -亚麻酸代谢	6	59	0.047 879
alpha-Linolenic acid metabolism			
苯丙烷类生物合成	15	209	0.048 586
Phenylpropanoid biosynthesis			
合计	333	7 417	-
Total			

注:  $P < 0.05$  表示两个品种在 T3 时期存在显著性差异

Note:  $P < 0.05$  indicates that there are significant differences between the two varieties in T3 stage

### 1.3 猕猴桃果肉颜色相关差异基因发掘

在 Pathway 分析中已经发现, 在同部位不同品种间显著富集的通路中均存在花青素、类黄酮和苯丙氨酸等合成或代谢关键通路, 结合之前其它文献的报告(Liu et al., 2017; Xia et al., 2021), 本研究重点对花青素、叶绿素及类胡萝卜素合成途径基因进行了对比研究。

分析结果显示, T3 时期的内果皮中, 两品种共有 3 个色素代谢基因差异显著(表 3), 包括 2 个花青素代谢基因和 1 个类胡萝卜素合成基因。其中 *Achn176251* (*UGT71A16*) 在‘金实 1 号’内果皮中显著上调, 该基因能编码花青素 5, 3-O-葡萄糖基转移酶(Anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase), 是花色素苷合成反应中最重要的酶, 其在‘金实 1 号’内果皮中表达比在‘红实 2 号’内果皮高 39.99 倍, 推测其功能可能是在糖基化反应中降低其下游花色素苷合成或显色。而 *Achn385311* (*3GGT*) 在红色品种中表达比黄色品种高, 其生成物为飞燕草素(Delphinidin 3-O-beta-D-sambubioside), 在分子生物学水平推测可能与类胡萝卜素合成相关酶的高活性有关, 通过分析发现 *Achn158981* (*GT7*) 在 T3 期, ‘金实 1 号’内果皮是‘红实 2 号’内果皮表达量的 76.10 倍, 该基因编码糖基转移酶, 能直接增强下游脱落酸葡萄糖酯的合成, 因此, 在内果皮中, 该基因



可能是黄色显色的重要基因。

表 3 两品种内果皮与呈色相关的差异基因信息

Table 3 Differential gene information related to coloration in endocarp of two varieties

基因 ID	RPKM-HSI-T3	RPKM-JSI-T3	倍数	调控通路	基因功能
Gene ID			Fold change	Pathway	Gene function
<i>Achn176251</i>	7.60	303.72	39.99	花青素合成 Anthocyanin biosynthesis	花青素 5,3-O-葡萄糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase
<i>Achn385311</i>	40.49	5.96	0.15	花青素合成 Anthocyanin biosynthesis	花青素 3-O-葡萄糖苷 2"-O-葡萄糖基转移酶 Anthocyanidin 3-O-glucoside 2"-O-glucosyltransferase
<i>Achn158981</i>	1.51	115.23	76.10	类胡萝卜素生物合成 Carotenoid biosynthesis	脱落 β-葡萄糖基转移酶 7 Abscisate beta-glucosyltransferase 7

注: RPKM-HSI-T3: ‘红实 2 号’内果皮 T3 时期表达量; RPKM-JSI-T3: ‘金实 1 号’内果皮 T3 时期表达量

Note: RPKM-HSI-T3: Expression level of ‘Hongshi2’ endocarp at T3 stage; RPKM-JSI-T3: Expression level of T3 stage in endocarp of ‘Jinshi1’

同样的,通过对中果皮的差异基因进一步分析,共鉴定出 14 个与果肉颜色相关的关键基因(表 4)。其中,包括 7 个叶绿素合成基因、3 个花青素合成及 4 个胡萝卜素合成基因,并发现 *Achn068721* 和 *Achn282201* 两个 *PAO* 基因在‘金实 1 号’中果皮中表达量比‘红实 2 号’中果皮高,而 *PAO* 酶对叶绿素降解是非常重要的(郑丽, 2013),这可能是叶绿素降解的关键调控点,由于两品种中果皮在早期 T1、T2 都是绿色,但‘金实 1 号’中果皮在 T3 期逐渐变黄(涂美艳等, 2019a; 2019b),其根本原因可能在于 *PAO* 酶活性增强,加速了叶绿素的降解,导致果皮变黄。

表 4 中果皮与呈色相关的差异基因信息

Table 4 Differential gene information related to coloration in sarcocarp

基因 ID	RPKM-HSO-T3	RPKM-JSO-T3	倍数	调控通路	基因功能
Gene ID			Fold change	Pathway	Gene function
<i>Achn176251</i>	23.94	340.14	14.21	花青素合成 Anthocyanin biosynthesis	花青素 5,3-O-葡萄糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase
<i>Achn209671</i>	92.57	3.66	0.04	花青素合成 Anthocyanin biosynthesis	山奈酚 3-O-β-D-半乳糖转移酶样 Kaempferol 3-O-beta-D-galactosyltransferase-like
<i>Achn176271</i>	951.26	5 526.87	5.81	花青素合成 Anthocyanin biosynthesis	花青素 5,3-O-葡萄糖基转移酶 Anthocyanidin 5,3-O-glucosyltransferase
<i>Achn039361</i>	15.91	3.14	0.20	类胡萝卜素生物合成 Carotenoid biosynthesis	玉米粒蛋白合成酶 Zerumbone synthase
<i>Achn304361</i>	124.10	47.13	0.39	类胡萝卜素生物合成 Carotenoid biosynthesis	假定蛋白 Hypothetical protein

<i>Achn140141</i>	51.00	9.91	0.19	类胡萝卜素生物合成 Carotenoid biosynthesis	九顺式环氧类胡萝卜素双加氧酶 3 Nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3
<i>Achn216521</i>	14.09	203.82	14.47	类胡萝卜素生物合成 Carotenoid biosynthesis	蒙脱石 A 合成酶 Momialactone A synthase
<i>Achn023561</i>	98.66	216.88	2.19	卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	叶绿体中镁螯合酶亚基 Magnesium-chelatase subunit ChlH, Chloroplastic
<i>Achn036951</i>	64.38	8.06	0.13	卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	未标记的 loc107014587 Uncharacterized LOC107014587
<i>Achn068721</i>	85.15	269.66	3.17	卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	假定蛋白 Hypothetical protein
<i>Achn175851</i>	51.59	17.71	0.34	卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	氰醇 β-葡萄糖基转移酶 Cyanohydrin beta-glucosyltransferase
<i>Achn282201</i>	16.64	52.50	3.16	卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	假定蛋白 Hypothetical protein
<i>Achn121561</i>	944.28	2 187.16	2.32	卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	氯塑性香叶基香叶基二磷酸还原酶 Geranylgeranyl diphosphate reductase, chloroplastic
<i>Achn063441</i>	28.67	69.24	2.42	卟啉和叶绿素代谢 Porphyrin and chlorophyll metabolism	叶绿体中镁螯合酶亚基 Magnesium-chelatase subunit ChlH, chloroplastic

注: RPKM-HSO-T3: '红实 2 号'中果皮 T3 时期表达量; RPKM-JSO-T3: '金实 1 号'中果皮 T3 时期表达量

Note: RPKM-HSO-T3: Expression level of 'Hongshi2' pericarpium at T3 stage; RPKM-JSO-T3: Expression level of T3 stage in Pericarp of 'Jinshi1'

#### 1.4 猕猴桃果肉颜色 EST-SSR 分子标记开发

通过对猕猴桃果肉颜色相关的 230 个 Unigenes 进行 SSR 分析, 在转录组数据库基础上, 开发了 727 对与猕猴桃果肉色素相关的 EST-SSR 标记。随机选择覆盖 105 个基因的 112 对引物检测 3 种不同颜色的 7 份猕猴桃样本(图 4), 能够将 7 份样本全部扩出的引物共有 78 对, 引物有效扩增率为 69.64%; 具有多态性的引物共有 58 对, 多态性频率为 74.36%。

对具有多态性的 58 对 EST-SSR 标记进行再次筛选, 发现能同时区分 3 种果肉颜色猕猴桃样本的共有 23 对(占 39.65%), 其中 7 对属于糖代谢类别、5 对属于抗氧化活性类别、6 对属于类胡萝卜素代谢类别、3 对属于类黄酮代谢类别、1 对属于叶绿素代谢类别、1 对属于光合作用类别, 基因长度 387~2 592 bp (表 5)。

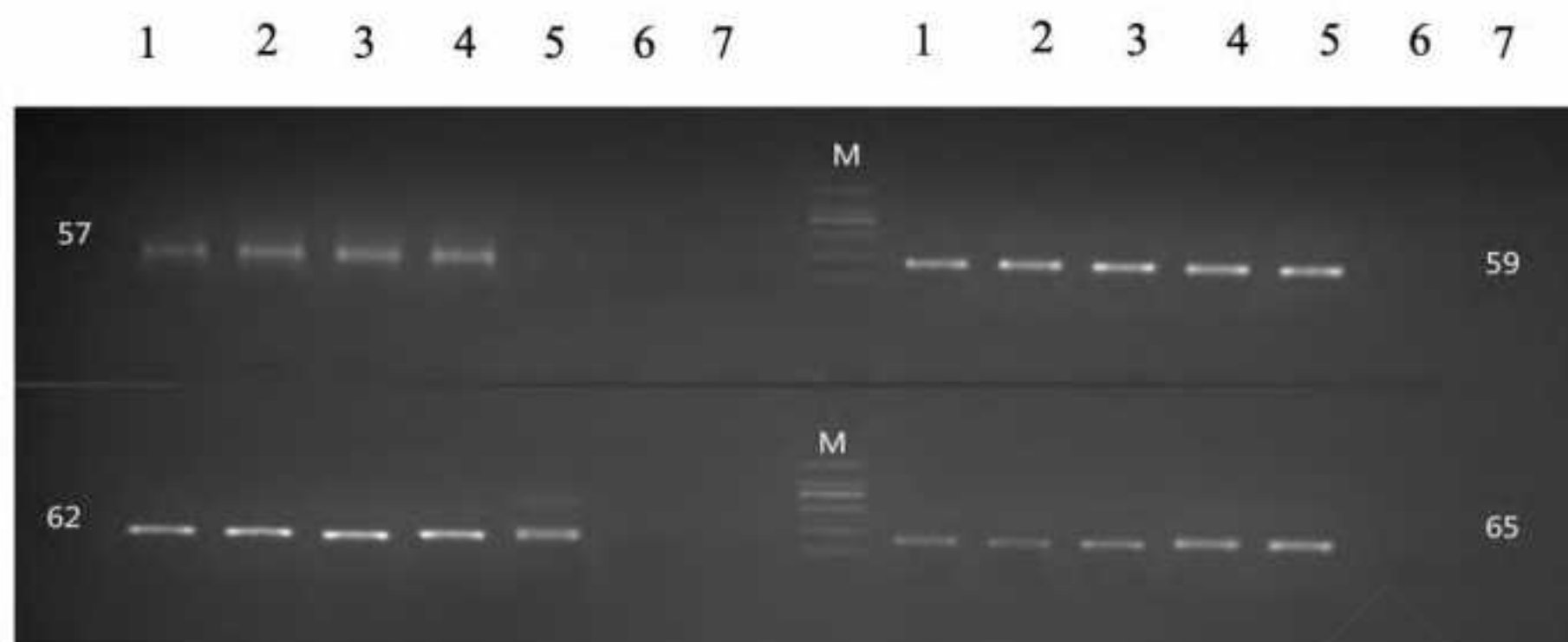


图4 猕猴桃果肉颜色 EST-SSR 分子标记分析

注: M: DL2000 DNA Marker; 1~7: J1, J2, H2, J2X, RX, Jinkui, Cuixiang; 图中数字代表相应的引物序号

Figure 4 The analysis of EST-SSR Markers in Kiwifruit with Different Flesh Color

Note: M: DL2000 DNA Marker; 1~7: J1, J2, H2, J2X, RX, Jinkui, Cuixiang; The number in the figure represents the corresponding primer sequence number

表5 鉴别红黄绿3种猕猴桃果肉颜色的 EST-SSR 相应基因信息

Table 5 Identifies EST-SSR gene information of red, yellow and green kiwifruit pulp color

编码 No.	基因 ID Gene ID	类别 Classification	长度(bp) Length (bp)	KEGG-注释 KEGG-Annot
6	Achn002621	类胡萝卜素代谢 Carotenoid	1 353	SPho3; starch phosphorylase 3 (IC); K00688 glycogen phosphorylase [EC:2.4.1.1]
10	Achn005181	抗氧化活性 Oxidation	1 647	Peroxisome biogenesis protein 5; K13342 peroxin-5
23	Achn012531	抗氧化活性 Oxidation	1 254	Serine--glyoxylate aminotransferase; K00830 alanine-glyoxylate transaminase /serine-glyoxylate transaminase/serine-pyruvate transaminase [EC:2.6.1.44 2.6.1.45 2.6.1.51]
33	Achn017721	糖代谢 Suger	411	Hypothetical protein; K01810 glucose-6-phosphate isomerase [EC:5.3.1.9]
44	Achn028041	光合作用 Photosynthesis	402	Hypothetical protein; K02703 photosystem II P680 reaction center D1 protein [EC:1.10.3.9]
50	Achn032211	糖代谢 Suger	1 167	Polygalacturonase At1g48100; K01213 galacturan 1,4-alpha-galacturonidase [EC:3.2.1.67]
52	Achn033551	糖代谢 Suger	867	Hypothetical protein; K08869 aarF domain-containing kinase
53	Achn034261	抗氧化活性 Oxidation	2 202	Hypothetical protein; K04733 interleukin-1 receptor-associated kinase 4 [EC:2.7.11.1]
54	Achn034641	类胡萝卜素代谢 Carotenoid	387	Uncharacterized LOC106368192; K15744 zeta-carotene isomerase [EC:5.2.1.12]
59	Achn038381	类黄酮代谢	1 005	Adenine/guanine permease AZG1; K06901 putative MFS transporter, AGZA family, xanthine/uracil permease

		Flavonoid		
60	Achn039361	类胡萝卜素代谢	996	Zerumbone synthase; K09841 xanthoxin dehydrogenase [EC:1.1.1.288]
		Carotenoid		
62	Achn040261	糖代谢	1 320	Aldo-keto reductase family 4 member C9; K00011 aldehyde reductase [EC:1.1.1.21]
		Suger		
68	Achn044621	抗氧化活性	732	Thioredoxin superfamily protein; K03386 peroxiredoxin (alkyl hydroperoxide reductase subunit C) [EC:1.11.1.15]
		Oxidation		
73	Achn046221	类胡萝卜素代谢	1 230	3-Hydroxybenzoate 6-hydroxylase-like; K00480 salicylate hydroxylase [EC:1.14.13.1]
		Carotenoid		
76	Achn047071	糖代谢	2 592	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g04860; K01176 alpha-amylase [EC:3.2.1.1]
		Suger		
82	Achn049951	糖代谢	537	ATP-dependent 6-phosphofructokinase 3; K00850 6-phosphofructokinase 1 [EC:2.7.1.11]
		Suger		
89	Achn052661	叶绿素代谢	1 494	Hypothetical protein; K13071 pheophorbide a oxygenase [EC:1.14.15.17]
		Chlorophyll		
91	Achn053861	糖代谢	2 433	Trehalose-phosphatase/synthase 9; K16055 trehalose 6-phosphate synthase/phosphatase [EC:2.4.1.15 3.1.3.12]
		Suger		
94	Achn054561	类黄酮代谢	1 167	Omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase; K15400 omega-hydroxypalmitate O-feruloyl transferase [EC:2.3.1.188]
		Flavonoid		
98	Achn058301	类胡萝卜素代谢	1 653	Prolycopene isomerase, chloroplastic; K09835 prolycopene isomerase [EC:5.2.1.13]
		Carotenoid		
102	Achn061261	类胡萝卜素代谢	1 488	Lycopene epsilon cyclase, chloroplastic; K06444 lycopene epsilon-cyclase [EC:5.5.1.18]
		Carotenoid		
104	Achn061821	抗氧化活性	1 143	Aldolase-type TIM barrel family protein isoform 1; K11517 (S)-2-hydroxy-acid oxidase [EC:1.1.3.15]
		Oxidation		
110	Achn085041	类黄酮代谢	1 530	Flavonoid 3',5'-hydroxylase 2; K13083 flavonoid 3',5'-hydroxylase [EC:1.14.13.88]
		Flavonoid		

## 2 讨论

猕猴桃因富含维生素 C，被誉为“水果之王”，这正是其能在短暂的驯化栽培后快速发展成大产业的重要原因。四川是世界上首个红肉猕猴桃品种选育地，随着该类型猕猴桃品种的选育与推广，更加速了世界猕猴桃产业发展进程，也吸引了更多科研人员开始从事猕猴桃果肉颜色研究。猕猴桃的果肉颜色主要分为 3 种类型，即绿肉猕猴桃、黄肉猕猴桃和红肉猕猴桃(张亮等, 2012; 黄春辉等, 2014)。目前，已经知道绿肉猕猴桃与果肉中叶绿素含量有关系，黄肉猕猴桃果肉呈现黄色主要原因是果肉中类胡萝卜素与叶绿素含量比值相关，当比值增大时果肉显现黄色，而红肉猕猴桃主要是由于果肉中花青素的积累导致果肉变为红色(Xia et al., 2021; Nishiyama et al., 2005; 刘颖等, 2012)。2013 年中国科学家利用中华猕猴桃“红阳”，完成了首个猕猴桃基因组测序工作(Huang et al., 2013)，为猕猴桃分子生物学研究提供参考，促进猕猴桃果肉品种分子机理的研究。在生理学上已经明确黄肉猕猴桃呈现黄色的原因，但是关于猕猴桃果肉呈现黄色分子机理却少有报道。同样，也在生理学上阐明红肉猕猴桃果肉出现红色的原因，但是关于花青素合成的代谢网络

却尚未明确。

花青素的合成由两类基因控制，包括结构基因和调节基因。目前已经有部分结构基因被克隆，而调节基因相对研究的就更少。本课题组在前期研究中对比了红肉猕猴桃品种‘红实 2 号’和黄肉猕猴桃‘金实 1 号’果实发育过程中果肉颜色的变化，发现在 T1 至 T2 时期，二者果肉颜色基本相似，无太大差异，但是当果实发育至 T3 时期时，二者果实颜色开始发生明显变化，‘红实 2 号’中果皮呈现绿素，内果皮开始着红色，显现为淡红色，而‘金实 1 号’中果皮和内果皮均为淡黄色。这就说明 T3 时期可能是猕猴桃果肉颜色转色的关键时期(涂美艳等, 2019a; 2019b)。

本研究采用 RNA-seq 技术，将红肉猕猴桃品种‘红实 2 号’和黄肉猕猴桃‘金实 1 号’果色发育 T1 和 T3 时期中果皮和内果皮进行转录组测序，然后进行分析比较两个品种内果皮和中果皮差异表达基因，发现编码花青素 5,3-O-葡萄糖基转移酶的关键基因 *Achn176251 (UGT71A16)* 在‘金实 1 号’T3 时期内果皮和中果皮中均存在高量表达，而编码飞燕草素合成的关键基因 *Achn385311 (3GGT)* 在‘红实 2 号’T3 时期的内果皮中高量表达，除绿色植物外，该飞燕草素在多种植物中已经鉴定和分离(李敏等, 2018)，推测红肉猕猴桃内果皮着色可能与该基因编码酶高表达相关。根据前期的果肉形态学观察结果，‘金实 1 号’内果皮在 T2~T4 期均为黄色(涂美艳等, 2019b)。已有研究发现，糖基转移酶(glycosyltransferase, GT)是专门催化糖基化反应的酶类，它们将活性糖基从糖基供体转移到糖基受体，形成糖苷键，产物包括寡糖、多糖、各种复合糖(糖蛋白、糖脂)和糖苷化合物(如花色苷，黄酮糖苷，白藜芦醇糖苷等)(Li et al., 2001)。黄金霞等(2006)认为，花青素颜色存在差异与其结构有较大关系，一般花青素结构单元中 B 环的羟基化(-OH)数量由 1 个增加到 3 个，颜色逐渐趋向蓝色发展，甲氧基化(-OCH<sub>3</sub>)数量由 0 个增多到 2 个，颜色逐渐趋向红色发展，但 A 环和 C 环上 3 和 5 位置可加上糖基，糖基化由 0 个增加到 2 个，植物颜色鲜艳程度会逐渐降低。由此推测，*Achn176251 (UGT71A16)* 基因在‘金实 1 号’果肉中的高量表达可能是造成其后期果肉无法再次呈现红色的重要原因，其功能可能为：(1)在细胞内作负催化酶，降低红色花色苷的合成效率；(2)具有“截源分流”作用，将红色花色苷前体物质通过其它生化反应途径提前消耗掉。而 *Achn385311 (3GGT)* 基因可能是控制‘红实 2 号’内果皮花青素合成的主效基因，这与蒲文江(2017)研究认为的飞燕草素是猕猴桃花青素中重要组成部分的结论一致。另外，编码糖基转移酶的 *Achn158981 (GT7)* 基因在 T3 期‘金实 1 号’内果皮表达量是‘红实 2 号’内果皮的 76.10 倍，该基因能直接增强下游脱落酸葡萄糖酯的合成，也可能是引起黄色显色的重要基因。更值得注意的是，T3 时期，*Achn068721* 和 *Achn282201* 两个 PAO 基因在‘金实 1 号’中果皮中表达量比‘红实 2 号’中果皮高，而 PAO 酶是叶绿素降解关键酶(郑丽, 2013)。因此，‘金实 1 号’果肉呈黄色还可能与这两个基因加速叶绿素降解有关。

猕猴桃品种丰富，通过野生和实生表型鉴定、选优，以芽变和杂交等方法培育新品种的猕猴桃传统育种已有较长的历史。种间杂交和种内多倍化现象普遍，实践中不乏同名异物和同物异名现象，给种质资源的鉴定带来了困难。不同果肉颜色的猕猴桃材料与其果肉中所富集的不同色素成分、维生素 C 和糖含量等方面存在很大差异，在 DNA 水平上具有很高的遗传多样性。本研究成功开发了 727 对猕猴桃 EST-SSR 标记，为猕猴桃果肉颜色相关性状的分子标记辅助育种提供了重要参考。利用红肉、黄肉、绿肉 3 种不同果

肉颜色的 7 个供试样本进行荧光毛细管电泳检测, 在 78 对 EST-SSR 有效扩增中, 有 58 对具有多态性, 有 23 对可区分不同果肉颜色的猕猴桃样本, 并能够得到完整的所在基因、染色体以及染色体中具体位置的信息。这些标记的发掘有助于猕猴桃颜色性状早期分子标记辅助选择, 或克隆、分离重要农艺性状基因, 可以大大加快猕猴桃育种进程, 缩短育种年限, 提高育种效率。

### 3 材料与方法

#### 3.1 试验材料

本试验以‘红实 2 号’和‘金实 1 号’为材料, 其中‘红实 2 号’是四川省自然资源科学研究院以‘红阳’为母本, 雄株 SF0612M 为父本杂交选育出的红肉猕猴桃新品种。‘金实 1 号’是由四川省自然资源科学研究院从江西奉新县采集的野生猕猴桃种子实生选育而成, 成熟后果肉金黄色。两个品种试验植株均定植于四川省什邡市湔底镇下院村四川省自然资源科学研究院猕猴桃科研基地(31°13'33.46"N, 104°01'9.54"E)。

本研究选择了两个猕猴桃品种果肉呈色具有较大特点的 2 个时期, 即‘红实 2 号’的开花后 0 d (T1 时期)和开花后 75 d (T3 时期), ‘金实 1 号’的开花后 0 d (T1 时期)和开花后 81 d (T3 时期), 分内果皮和外果皮样本进行转录组测序, 每个时期设置 2 个生物学重复。采样时, 均去除内果皮中全部种子。

分子标记多态性筛选材料共 7 份, 包括黄肉材料 3 份‘金实 1 号’(J1)‘金实 2 号’(J2)‘金实 2 号雄’(J2X); 红肉材料 2 份‘红实 2 号’(H2)‘04137 雄’(HX2); 绿肉材料 2 份‘翠香’(Cuixiang)‘金魁’(Jinkui)。

#### 3.2 总 RNA 及 DNA 提取及转录组测序

猕猴桃果肉总 RNA 采用植物总 RNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司, 北京)进行提取, 提取之后经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行质量检测。将每 3 株样本的总 RNA 等量混样, 生物学重复 2 次。RNA 提取完成之后转录组测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成, 使用 Illumina HiSeq X ten 测序仪进行测序, 测序为 Illumina 双末端(PE150)策略。基因组 DNA 提取使用 TSINGKE 植物 DNA 提取试剂盒(通用型)。

#### 3.3 KEGG 富集分析

KEGG 是有关 Pathway 的主要公共数据库, Pathway 显著性富集分析以 KEGG Pathway 为单位, 应用超几何检验, 并通过多重矫正, 找出与整个基因组背景相比, 在差异表达基因中显著性富集的 Pathway。本研究中通路富集分析采用 KAAS (KEGG Automatic Annotation Server, <http://www.genome.jp/tools/kaas/>)软件, 首先将基因序列与 KEGG 数据库进行 BLAST 比对获取基因 KO 注释, 随后将差异基因导入 KAAS 进行富集分析, 显著性阈值定义为  $P < 0.05$ 。

#### 3.4 EST-SSR 引物发掘

首先对转录组测序不同时期基因变化趋势分析, 进而对表达差异基因进行序列比对鉴定其功能, 发掘与猕猴桃果肉颜色相关的 230 个 Unigenes, 使用 MicroSatellite (MISA) (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>)程序对这些 Unigenes 进行 SSR 位点查找, 搜索标准为: 二核苷酸最少重复 7 次、三核苷酸最少重复 5 次、四核苷酸最少重复 4 次、五核苷酸和六核苷酸最少重复 3 次, 筛选出符合条件的 SSR 位点。利用 Premier 5.0 (PREMIER Biosoft International, Silicon Valley, USA)进行引物设计, 设置主要参数为: 引物 G+C 含量在 40%~60%, 退火温度控制在 45 °C~65 °C, 预期产物长度在 100~350 bp, 上游引物与下游引物退火温度相

差不超过 5 °C，引物长度在 18~28 bp 之间。230 个 Unigenes 设计出 727 对 EST-SSR 引物。

## 作者贡献

孙淑霞、涂美艳和李靖负责实验设计、实验执行及完成论文初稿；陈栋和宋海岩负责数据分析；徐子鸿和李明章参与了本实验中的样品采集工作；江国良是本研究负责人，与李明章、廖明安等共同指导实验设计、数据统计、论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

## 致谢

本研究由财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系猕猴桃成都综合试验站、四川省科技支撑计划(2020JDTD0032, 2021YFYZ0023)、四川水果创新团队岗位专家经费和四川省农科院学科建设项目共同资助。

## 参考文献

- Ampomah-Dwamena C., Thrimawithana A.H., Dejnopratt S., Lewis D., Espley R.V., and Allan A.C., 2018, A kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) R2R3-MYB transcription factor modulates chlorophyll and carotenoid accumulation, *New Phytol.*, 221: 309-325.
- Brevik A., Gaivão I., Medin T., Jørgensen A., Piasek A., Elilasson J., Karlson A., Blomhoff R., Veggan T., Duttaroy A.K., and Collins A.R., 2011, Supplementation of a western diet with golden kiwifruits (*Actinidia chinensis* var. 'Hort 16A') effects on biomarkers of oxidation damage and antioxidant protection, *Nutr. J.*, 10(1): 54.
- Gao J., Huang C.H., Ge C.L., Qu X.Y., Gu Q.Q., and Xu X.B., 2013, Analysis of differential gene expression during color -turning stages in yellow flesh kiwifruit (*Actinidia chinensis*) using DGE, *Guoshu Xuebao (Journal of Fruit Science)*, 30(3): 361-368. (高洁, 黄春辉, 葛翠莲, 曲雪艳, 辜青青, 徐小彪, 2013, 利用 DGE 对黄肉猕猴桃果实着色过程中相关差异基因表达的解析, *果树学报*, 30(3): 361-368.)
- Huang C.H., Gao J., Zhang X.H., Chen C.J., Qu X.Y., and Xu X.B., 2014, Study on the changes of contents of pigments of yellow-fleshed kiwifruit during fruit development, *Guoshu Xuebao (Journal of Fruit Science)*, 31(4): 617-623. (黄春辉, 高洁, 张晓慧, 陈楚佳, 曲雪艳, 徐小彪, 2014, 黄肉猕猴桃果实发育期间色素变化及呈色分析, *果树学报*, 31(4): 617-623.)
- Huang H.W., Wang Y., Zhang Z.H., Jiang Z.W., and Wang S.M., 2004, *Actinidia* germplasm resources and kiwifruit industry in China, *HortScience*, 39(6): 1165-1172.
- Huang J.X., Wang L.S., Li X.M., and Lu Y.Q., 2006, Advances in molecular basis and evolution of floral color variation, *Zhiwuxue Tongbao (Chinese Bulletin of Botany)*, 23(4): 321-333. (黄金霞, 王亮生, 李晓梅, 鲁迎青, 2006, 花色变异的分子基础与进化模式研究进展, *植物学通报*, 23(4): 321-333.)
- Huang S.X., Ding J., Deng D.J., Tang W., Sun H.H., Liu D.Y., Zhang L., Niu X.L., Zhang X., Meng M., Yu J.D., Liu J., Han Y., Shi W., Zhang D.F., Cao S.Q., Wei Z.J., Cui Y.L., Xia Y.H., Zeng H.P., Bao K., Lin L., Min Y., Zhang H., Miao M., Tang X.F., Zhu Y.Y., Sui Y., Li G.W., Sun H.J., Yue J.Y., Sun J.Q., Liu F.F., Zhou L.Q., Lei L., Zheng X.Q., Liu M., Huang L., Song J., Xu C.H., Li J.W., Ye K.Y., Zhong S.L., Lu B.R., He G.H., Xiao F.M., Wang H.L., Zheng H.K., Fei Z.J., and Liu Y.S., 2013, Draft genome of the kiwifruit *Actinidia chinensis*, *Nat. Commun.* 4(1): 2640.
- Kim M., Kim S.C., Song K.J., Kim H.B., Kim I.J., Song E.Y., and Chun S.J., 2010, Transformation of carotenoid biosynthetic genes using a micro-cross section method in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward), *Plant Cell Rep.*, 29(12): 1339-1349.
- Li M., Luo Y.T., Lu X.C., Sun Y.T., and Qiu D.L., 2018, Changes in composition of anthocyanins in *Brunfelsia acuminata* flowers, *Redai Yaredai Zhiwu Xuebao (Journal of Tropical and Subtropical Botany)*, 26(6): 627-632. (李敏, 罗宇婷, 卢小草, 孙月婷, 邱栋梁, 2018, 鸳鸯茉莉开花过程中花青素组成的变化, *热带亚热带植物学报*, 26(6): 627-632.)
- Li W.B., 2015, Gene expression profiling of development of 'Hongyang' and anthocyanin accumulation in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) based on transcriptome sequencing, Dissertation Ph.D., The Wuhan Botanical Garden of the Chinese Academy of Sciences, Supervisor: Huang H.W., pp.69-83. (李文彬, 2015, '红阳'猕猴桃果实发育转录组及花青素累积机理研究, 博士学位论文, 中国科学院武汉植物园, 导师: 黄宏文, pp.69-83.)
- Li W.B., Liu Y.F., and Peng M., 2014, Clone and expression analysis of transcript factor *AdGL3* for anthocyanin biosynthesis in *A. chinensis* cv. Hongyang, *Redai Zuowu Xuebao (Chinese Journal of Tropical Crops)*, 35(9): 1741-1746. (李文彬, 刘义飞, 彭明, 2014, '红阳'猕猴桃中花青素转录调控因子 *AdGL3* 的克隆及表达分析, *热带作物学报*, 35(9): 1741-1746.)
- Li Y., Baldauf S., Lim E.K., and Bowles D.J., 2001, Phylogenetic analysis of the UDP-glycosyltransferase multigene family of *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.*, 276 (6): 4338-4343.
- Liu Y., Zhao C.Z., Wu F.K., Chen J.Y., Liu J.C., Gu H., Yang X.H., and Fang J.B., 2012, Identification and extraction of anthocyanins in red-fleshed kiwifruit, *Guoshu Xuebao (Journal of Fruit Science)*, 29(3): 493-497. (刘颖, 赵长竹, 吴丰魁, 陈锦永, 刘杰超, 顾红, 杨晓红, 方金豹, 2012, 红肉猕猴桃花色苷组成及浸提研究, *果树学报*, 29(3): 493-497.)
- Liu Y., Zhou B., Qi Y., Chen X., Liu C., Liu Z., and Ren X., 2017, Expression differences of pigment structural genes and transcription factors explain flesh coloration in three contrasting kiwifruit cultivars, *Front. Plant Sci.*, 8(1): 1507.
- Montefiori M., Comeskey D.J., Wohlert M., and Mcghee T.K., 2009, Characterization and quantification of anthocyanins in red kiwifruit (*Actinidia* spp.), *J. Agr. Food Chem.*, 57(15): 6856-6861.

- Montefiori M., Espley R.V., Stevenson D., Cooney J., Datson P.M., Saiz A., Atkinson R.G., Hellens R.P., and Allan A.C., 2011, Identification and characterisation of F3GT1 and F3GGT1, two glycosyltransferases responsible for anthocyanin biosynthesis in red fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis*), *Plant J.*, 65(1): 106-118.
- Montefiori M., Mcghie T.K., Costa G., and Ferguson A.R., 2005, Pigments in the fruit of red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* and *Actinidia deliciosa*), *J. Agr. Food Chem.*, 53(24): 9526-9530.
- Nishiyama I., Fukuda T., and Oota T., 2005, Genotypic differences in chlorophyll, lutein, and b-carotene contents in the fruits of *Actinidia* species, *J. Agr. Food Chem.*, 53(16): 6403-6407.
- Pu W.J., 2017, Inheritance analysis of ornamental traits in backcross hybrids population between ornamental 'Jiangshanjiao' and a male of *Actinidia chinensis*, Thesis for M.S., Anhui Agricultural University, Supervisor: Wang D.L., pp.11-41. (蒲文江, 2017, 猕猴桃观花品种'江山娇'与中华猕猴桃雄株杂交后代观赏性状遗传分析, 硕士学位论文, 安徽农业大学, 导师: 王冬良, pp.11-41.)
- Tu M.Y., Li M.Z., Sun S.X., Li J., Chen D., Song H.Y., Jiang G.L., and Liao M.A., 2019a, Comparative transcriptome analysis of different pulp parts at fruit development stages of red-fleshed kiwifruit, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 17(3): 729-738. (涂美艳, 李明章, 孙淑霞, 李靖, 陈栋, 宋海岩, 江国良, 廖明安, 2019a, 红肉猕猴桃果实发育期不同果肉部位比较转录组分析, 分子植物育种, 17(3): 729-738.)
- Tu M.Y., Li M.Z., Sun S.X., Li J., Chen D., Song H.Y., Jiang G.L., and Liao M.A., 2019b, Comparative transcriptome analysis of different development stages of yellow-fleshed kiwifruit sarcocarp and endocarp, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 17(5): 1479-1486. (涂美艳, 李明章, 孙淑霞, 李靖, 陈栋, 宋海岩, 江国良, 廖明安, 2019b, 黄肉猕猴桃中果皮和内果皮不同时期比较转录组分析, 分子植物育种, 17(5): 1479-1486.)
- Xia H., Wang X., Zhou Y.J., Su W.Y., Jiang L.J., Deng H.H., Li M.Z., Zhuang Q.G., Xie Y., and Liang D., 2021, Biochemical and molecular factors governing flesh-color development in two yellow-fleshed kiwifruit cultivars, *Sci. Hortic.*, 280(1): 109929.
- Yang H.L., Wang Y.C., Jiang Z.W., and Huang H.W., 2009, Construction of cDNA library of 'Hongyang' kiwifruit and analysis of *F3H* expression, *Yichuan (Hereditas)*, 31(12): 1265-1272. (杨红丽, 王彦昌, 姜正旺, 黄宏文, 2009, '红阳'猕猴桃 cDNA 文库构建及 *F3H* 基因的表达初探, 遗传, 31(12): 1265-1272.)
- Yang J., Jiang Z.W., and Wang Y.C., 2010, Cloning and expression of dihydroflavonol 4-reductase in *Actinidia chinensis* var. *rufopulpa*, *Wuhan Zhiwuxue Yanjiu (Journal of Wuhan Botanical Research)*, 28(6): 673-681. (杨俊, 姜正旺, 王彦昌, 2010, 红肉猕猴桃 *DFR* 基因的克隆及表达分析, 武汉植物学研究, 28(6): 673-681.)
- Zhang L., Man Y.P., Jiang Z.W., and Wang Y.C., 2012, Cloning and expression of anthocyanin pathway genes *AcCHS* and *AcLDOX* in *Actinidia chinensis*, *Yuanyi Xuebao (Acta Horticulturae Sinica)*, 39(11): 2124-2132. (张亮, 满玉萍, 姜正旺, 王彦昌, 2012, 猕猴桃花青素合成途径基因 *AcCHS* 和 *AcLDOX* 的克隆与表达分析, 园艺学报, 39(11): 2124-2132.)
- Zheng L., 2013, Cloning and analysis of *PAO* in the stay-green mutant of ougan mandarine (*Citrus suavissima*), Thesis for M.S., Huazhong Agricultural University, Supervisor: Cheng Y.J., pp.40-53. (郑丽, 2013, 青瓯柑 *PAO* 基因的克隆及分析, 硕士学位论文, 华中农业大学, 导师: 程运江, pp.40-53.)
- Zhuang W.B., Liu T.Y., Shu X.C., Qu S.C., Zhai H.H., Wang T., Zhang F.J., and Wang Z., 2018, The molecular regulation mechanism of anthocyanin biosynthesis and coloration in plants, *Zhiwu Shengli Xuebao (Plant Physiology Journal)*, 54(11): 1630-1644. (庄维兵, 刘天宇, 束晓春, 渠慎春, 翟恒华, 王涛, 张凤娇, 王忠, 2018, 植物体内花青素苷生物合成及呈色的分子调控机制, 植物生理学报, 54(11): 1630-1644.)