

转录组和代谢组联合分析揭示光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径

孙雅楠

(上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

摘要: 花色苷是决定“红颜”草莓果实色泽、营养价值和商品品质的核心次生代谢产物, 其合成过程受光照、温度等环境因子的严格调控, 其中光质作为光信号的重要载体, 对草莓果实花色苷积累具有显著调控作用, 但具体调控机制及关键路径尚未明确。为揭示不同光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的分子机制与代谢规律, 本研究以“红颜”草莓植株为试验材料, 设置红光、蓝光、白光3个光质处理组, 以自然光照为对照组, 在草莓果实绿果期、转色期和成熟期进行样品采集, 采用Illumina NovaSeq 6000测序平台进行转录组测序, 运用液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)进行代谢组检测, 通过生物信息学分析筛选差异表达基因(DEGs)和差异代谢物(DEMs), 构建基因-代谢物关联网络, 结合GO、KEGG富集分析及相关性分析, 系统解析光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键基因、代谢物及核心路径。结果显示, 不同光质处理显著影响“红颜”草莓果实花色苷含量, 其中蓝光处理显著促进花色苷积累, 红光处理抑制花色苷积累, 白光处理与对照组无显著差异但略高于对照组。转录组分析共筛选出12864个差异表达基因, 其中与花色苷合成相关的差异表达基因327个, 包括查尔酮合成酶(CHS)、查尔酮异构酶(CHI)、黄酮3-羟化酶(F3H)、二氢黄酮醇4-还原酶(DFR)、花青素合成酶(ANS)等结构基因, 以及MYB、bHLH、WD40等转录因子基因; 代谢组分析共鉴定出892种代谢物, 筛选出276个差异代谢物, 其中花色苷类差异代谢物42种, 包括矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷等关键花色苷组分。转录组与代谢组联合分析表明, 蓝光处理通过显著上调CHS、CHI、F3H、DFR、ANS等结构基因的表达, 促进查尔酮、黄酮、花青素等中间代谢物的积累, 进而推动花色苷合成; 红光处理则显著下调上述结构基因的表达, 抑制中间代谢物积累, 从而减少花色苷合成; MYB转录因子(尤其是FaMYB10、FaMYB113)在光质调控花色苷合成过程中发挥核心调控作用, 通过与结构基因启动子结合, 调控结构基因的表达, 进而影响代谢物的积累。本研究通过转录组与代谢组联合分析, 首次系统揭示了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径, 明确了关键基因和代谢物的调控作用, 为利用光质调控技术提升草莓果实品质提供了理论依据和技术支撑, 也为草莓花色苷合成的分子机制研究奠定了基础。

关键词: 红颜草莓; 光质; 花色苷; 转录组; 代谢组; 联合分析; 调控路径

中图分类号: S668.4

文献标识码: B

文章编号: 3106-2547 (2025) 04-0001-13

DOI: 10.62022/FHR.issn3106-2547.2025.04.001

Integrated Transcriptome and Metabolome Analysis Reveals the Key Pathway of Light Quality Regulating Anthocyanin Synthesis in Fruits of "Hongyan" Strawberry

Sun Yanan

(School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

Abstract: Anthocyanins are the core secondary metabolites that determine the color, nutritional value and commercial quality of "Hongyan" strawberry fruits. Their synthesis process is strictly regulated by environmental factors such as light and temperature. Among them, light quality, as an important carrier of light signals, has a significant regulatory effect on the accumulation of anthocyanins in strawberry fruits, but the specific regulatory mechanism and key pathway are not yet clear. To reveal the molecular mechanism and metabolic rules of different light qualities regulating anthocyanin synthesis in "Hongyan" strawberry fruits, this study took "Hongyan" strawberry plants as experimental materials, set up three light quality treatment groups: red light, blue light and white light, with natural light as the control group. Samples were collected at the green fruit stage, color transition stage and mature stage of strawberry fruits. Transcriptome sequencing was performed using the Illumina NovaSeq 6000 sequencing platform, and metabolome detection was carried out by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Differentially expressed genes (DEGs) and differentially expressed metabolites (DEMs) were screened through bioinformatics analysis, and a gene-metabolite association network was constructed. Combined with GO, KEGG enrichment analysis and

作者简介: 孙雅楠, 博士, 助理研究员, 研究方向为设施园艺与光环境调控。

correlation analysis, the key genes, metabolites and core pathways of light quality regulating anthocyanin synthesis in "Hongyan" strawberry fruits were systematically analyzed. The results showed that different light quality treatments significantly affected the anthocyanin content of "Hongyan" strawberry fruits. Among them, blue light treatment significantly promoted anthocyanin accumulation, red light treatment inhibited anthocyanin accumulation, and white light treatment had no significant difference from the control group but was slightly higher than the control group. Transcriptome analysis identified a total of 12864 differentially expressed genes, including 327 differentially expressed genes related to anthocyanin synthesis, such as structural genes including chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CHI), flavanone 3-hydroxylase (F3H), dihydroflavonol 4-reductase (DFR), anthocyanin synthase (ANS), and transcription factor genes such as MYB, bHLH and WD40. Metabolome analysis identified a total of 892 metabolites and screened 276 differentially expressed metabolites, including 42 anthocyanin-related differentially expressed metabolites, such as cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, peonidin-3-glucoside and other key anthocyanin components. Integrated transcriptome and metabolome analysis showed that blue light treatment significantly up-regulated the expression of structural genes such as CHS, CHI, F3H, DFR and ANS, promoted the accumulation of intermediate metabolites such as chalcone, flavanone and anthocyanin, and thus promoted anthocyanin synthesis; red light treatment significantly down-regulated the expression of the above structural genes, inhibited the accumulation of intermediate metabolites, and thus reduced anthocyanin synthesis; MYB transcription factors (especially FaMYB10 and FaMYB113) played a core regulatory role in the process of light quality regulating anthocyanin synthesis, and regulated the expression of structural genes by binding to the promoters of structural genes, thereby affecting the accumulation of metabolites. Through integrated transcriptome and metabolome analysis, this study systematically revealed the key pathway of light quality regulating anthocyanin synthesis in "Hongyan" strawberry fruits for the first time, clarified the regulatory role of key genes and metabolites, provided a theoretical basis and technical support for improving strawberry fruit quality using light quality regulation technology, and also laid a foundation for the study of the molecular mechanism of strawberry anthocyanin synthesis.

Keywords: Hongyan strawberry; Light quality; Anthocyanin; Transcriptome; Metabolome; Integrated analysis; Regulatory pathway

1 引言

1.1 研究背景与意义

草莓属于蔷薇科草莓属多年生草本植物,是全球广泛栽培的温带水果之一,因其果实色泽鲜艳、风味浓郁、营养丰富,深受消费者喜爱,在全球水果市场中占据重要地位。近年来,随着人们生活水平的提高和消费观念的升级,消费者对草莓果实的品质要求不断提升,不仅关注果实的口感和风味,更注重果实的色泽、营养价值和功能性。草莓果实的品质受品种、栽培环境、栽培管理等多种因素影响,其中花色苷作为草莓果实中重要的次生代谢产物,是决定果实色泽的核心物质,同时也是衡量草莓营养价值和商品价值的重要指标^[1]。

“红颜”草莓是由浙江省农科院选育的优良草莓品种,由品种“06-3-6”与“越心”杂交培育而成,属于红颜系草莓,也是目前中国栽培面积最大的草莓品种之一。该品种为大果型草莓,最大单果重可达120克,果实呈圆锥形,果皮鲜红光亮,果肉淡红,风味浓郁,甜度可达14%~16%,显著高于普通草莓品种(一般甜度仅为10%左右),且香气怡人,被誉为“草莓中的极品”。同时,“红颜”草莓花芽分化较容易,属于极早熟品种,从9月上中旬定植,11月中旬即可上市,采收期可持续至次年4~5月份,具有较强的市场竞争力。此外,“红颜”草莓植株生长势强,抗病性好,果实硬度高,运输过程中不易损耗,适合线上采购和长途运输,

是兼具商品价值和经济价值的优良草莓品种。但在实际栽培过程中,“红颜”草莓果实的色泽和花色苷含量易受环境因子影响,尤其是光照条件,不同光质、光强和光周期都会导致果实花色苷积累出现显著差异,进而影响果实的商品品质和营养价值,因此,探究光质对“红颜”草莓果实花色苷合成的调控机制,对提升“红颜”草莓果实品质具有重要现实意义。

花色苷是一类水溶性黄酮类次生代谢产物,广泛存在于植物的果实、花瓣、叶片等器官中,具有多种生理功能和营养价值^[2]。对于草莓果实而言,花色苷不仅赋予果实鲜红、粉红等艳丽色泽,提升果实的商品美观度和市场竞争力,还具有丰富的营养价值和抗氧化活性。研究表明,草莓果实中的花色苷主要包括矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷等组分,这些组分具有清除体内自由基、抗氧化、抗炎、抗肿瘤、保护心血管等多种生理功效,能够有效预防人体多种疾病,对人体健康具有重要益处。同时,花色苷的含量和组成也直接影响草莓果实的口感和风味,较高的花色苷含量能够提升果实的酸甜度和风味浓郁度,进一步增强草莓果实的市场认可度。因此,花色苷的合成与积累是“红颜”草莓果实品质形成的关键环节,调控花色苷合成已成为提升草莓果实品质的重要途径。

光作为植物生长发育过程中不可或缺的环境因子,不仅是光合作用的能量来源,更是重要的信号分子,通过调控植物体内相关基因的表达,影响植物的生长发育、形态建成和

次生代谢产物合成。光质是光的重要属性之一,指光的波长组成,不同波长的光(如红光、蓝光、绿光、紫光等)对植物的生理代谢具有不同的调控作用^[3]。其中,红光(波长620~750 nm)、蓝光(波长400~480 nm)和白光(复合光)是植物生长发育过程中最主要的光质类型,对植物次生代谢产物合成的调控作用最为显著。已有研究表明,光质能够通过调控次生代谢相关基因的表达,影响黄酮类、酚类、花色苷等次生代谢产物的合成与积累,其中对花色苷合成的调控作用尤为突出。例如,蓝光能够显著促进苹果、葡萄、蓝莓等果实花色苷的积累,红光则对部分植物花色苷合成具有抑制作用,而白光对花色苷合成的调控作用因植物品种而异。

草莓是典型的喜光植物,光照条件对其生长发育和果实品质形成具有至关重要的影响。在设施栽培模式下,光照不足、光质单一等问题普遍存在,导致草莓果实花色苷含量降低、色泽暗淡,严重影响果实的商品品质和经济价值。“红颜”草莓作为设施栽培的主要品种之一,其果实花色苷合成对光质变化尤为敏感,但目前关于不同光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的分子机制、关键基因和代谢路径尚未明确,相关研究多集中于光质对草莓果实花色苷含量的影响,缺乏从转录组和代谢组层面的系统解析^[4]。因此,深入探究光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径,明确关键基因和代谢物的调控作用,不仅能够丰富植物光信号调控次生代谢的理论体系,还能够为设施草莓栽培中光质调控技术的应用提供科学依据,通过优化光质条件,提升“红颜”草莓果实的花色苷含量和品质,推动草莓产业的高质量发展。

随着分子生物学技术的快速发展,转录组学和代谢组学已成为解析植物次生代谢机制的重要工具。转录组学能够全面分析特定条件下植物体内基因的表达情况,筛选出与目标性状相关的差异表达基因,揭示基因表达的调控规律;代谢组学则能够系统检测植物体内代谢物的种类和含量变化,明确代谢物的积累规律及其与目标性状的关系^[5]。将转录组学与代谢组学联合分析,能够实现“基因-代谢物”的关联解析,从分子水平和代谢水平共同揭示植物次生代谢的调控机制,明确关键基因和代谢物的相互作用关系,为次生代谢路径的解析提供更全面、更系统的依据。目前,转录组与代谢组联合分析已广泛应用于植物次生代谢研究中,在苹果、葡萄、番茄等作物的花色苷合成调控研究中取得了显著进展,但在光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的研究中尚未得到充分应用。因此,本研究采用转录组与代谢组联合分析技术,系统解析光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径,填补当前研究的空白,为草莓果实品质改良和设施栽

培光质调控提供理论支撑和技术指导。

1.2 研究目的与方法

1.2.1 研究目的

本研究的核心目的是通过转录组与代谢组联合分析技术,系统揭示光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径,明确不同光质对“红颜”草莓果实花色苷含量、相关基因表达和代谢物积累的影响,筛选出光质调控花色苷合成的关键基因和代谢物,阐明基因与代谢物之间的相互作用关系,揭示光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的分子机制。具体研究目的包括:

1.明确不同光质(红光、蓝光、白光)对“红颜”草莓果实花色苷含量的影响,确定不同光质对花色苷积累的调控趋势,筛选出最有利于“红颜”草莓果实花色苷积累的光质类型。

2.通过转录组测序分析,筛选出不同光质处理下“红颜”草莓果实中的差异表达基因,重点筛选与花色苷合成相关的差异表达基因,明确这些基因的表达模式和调控规律。

3.通过代谢组检测分析,鉴定不同光质处理下“红颜”草莓果实中的代谢物种类和含量变化,筛选出与花色苷合成相关的差异代谢物,明确不同光质对花色苷合成相关代谢物积累的影响。

4.构建转录组与代谢组联合分析模型,建立基因-代谢物关联网络,明确关键基因与关键代谢物之间的相互作用关系,揭示光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径。

5.阐明不同光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的分子机制,为设施草莓栽培中光质调控技术的应用提供理论依据,为草莓果实品质改良提供技术指导。

1.2.2 研究方法

本研究采用室内温室栽培试验与分子生物学分析相结合的方法,以“红颜”草莓植株为试验材料,设置不同光质处理,通过样品采集、转录组测序、代谢组检测及生物信息学分析,实现研究目的。具体研究方法如下:

1.实验材料:选取生长健壮、长势一致的“红颜”草莓幼苗,定植于温室大棚中,采用统一的栽培管理措施,确保植株生长状况一致。选取开花期一致的植株,进行光质处理,用于后续样品采集和分析^[6]。“红颜”草莓幼苗来源于上海交通大学农业与生物学院草莓试验基地,均为无病虫害、生长健壮的一年生幼苗,株高、茎粗等生长指标基本一致,确保实验材料的代表性和一致性。

2.光质处理:设置4个处理组,分别为红光处理组、蓝光处理组、白光处理组和自然光照对照组(CK)。采用LED

光源进行光质处理,红光波长设置为620~660 nm,蓝光波长设置为440~480 nm,白光为全光谱复合光。各处理组光强统一设置为 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光周期设置为12 h光照/12 h黑暗,处理时间从草莓开花坐果后开始,持续至果实成熟,期间定期观察植株生长状况和果实发育情况,确保光质处理的稳定性和一致性。光质处理过程中,严格控制温室环境条件,温度、湿度、 CO_2 浓度等环境因子保持一致,避免其他环境因子对实验结果造成干扰。

3.样品采集:在草莓果实发育的三个关键时期进行样品采集,分别为绿果期(坐果后7~10 d,果实呈绿色,体积较小,未开始着色)、转色期(坐果后20~25 d,果实开始着色,果皮出现红晕,体积逐渐增大)和成熟期(坐果后30~35 d,果实完全着色,呈鲜红色,果肉变软,风味浓郁)^[7]。每个处理组在每个时期采集3个生物学重复,每个重复选取3个大小一致、无病虫害、无机械损伤的果实,迅速采集后去除果柄和萼片,用无菌水冲洗干净,滤纸吸干表面水分,立即放入液氮中冷冻保存,用于后续的转录组测序和代谢组检测。同时,每个处理组在每个时期采集部分果实,用于花色苷含量测定。

4.花色苷含量测定:采用pH示差法测定草莓果实中花色苷的含量。取冷冻保存的草莓果实样品,经液氮研磨成粉末,称取一定量的粉末,加入提取液(甲醇-盐酸溶液,体积比95:5),避光提取一定时间,离心后取上清液,采用分光光度计测定不同波长下的吸光度,根据公式计算花色苷含量,每个样品设置3个技术重复,确保测定结果的准确性和可靠性。

5.转录组测序与分析:取液氮冷冻保存的草莓果实样品,采用改良的CTAB法提取总RNA,通过琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白测定仪(NanoDrop 2000)检测RNA的浓度、纯度及完整性,确保RNA质量符合测序要求。将合格的RNA样品送至专业测序公司,采用Illumina NovaSeq 6000测序平台进行转录组测序,测序策略为双末端测序(PE150)^[8]。测序完成后,对原始数据进行质量控制,去除低质量reads、接头序列、重复序列等,获得干净的高质量reads。利用Trinity软件对高质量reads进行从头组装,获得unigene序列。对unigene序列进行功能注释,包括NR、Swiss-Prot、GO、KEGG等数据库的注释,明确unigene的功能。采用DESeq2软件筛选不同光质处理组与对照组之间的差异表达基因,设置筛选阈值为 $|\log_2\text{FC}| \geq 1$ 且 $\text{padj} < 0.05$ 。对差异表达基因进行GO富集分析和KEGG通路分析,明确差异表达基因参与的生物学过程和代谢通路,重点分析与花色苷合成相关的差异表达基因。

6.代谢组检测与分析:取液氮冷冻保存的草莓果实样品,经液氮研磨成粉末,称取一定量的粉末,加入提取液(甲醇-乙腈-水,体积比2:2:1),避光提取一定时间,离心后取上清液,经滤膜过滤后,采用液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)进行代谢组检测。LC-MS检测采用超高效液相色谱(UPLC)与串联质谱(MS/MS)联用系统,色谱柱选用C18色谱柱,流动相为乙腈和0.1%甲酸水溶液,采用梯度洗脱方式,质谱采用电喷雾电离(ESI)源,正离子和负离子模式下进行检测。检测完成后,对原始数据进行前处理,包括峰提取、峰对齐、去噪、归一化等,获得代谢物的峰面积数据。通过与公共代谢物数据库(如MetaboAnalyst、HMDB等)比对,结合标准品验证,鉴定代谢物的种类。采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)和t检验筛选差异代谢物,设置筛选阈值为 $\text{VIP} \geq 1$ 且 $p < 0.05$ 。对差异代谢物进行KEGG通路分析,明确差异代谢物参与的主要代谢通路,重点分析与花色苷合成相关的差异代谢物。

7.转录组与代谢组联合分析:将转录组筛选得到的差异表达基因与代谢组筛选得到的差异代谢物进行关联分析。采用Pearson相关系数分析方法,计算差异表达基因与差异代谢物之间的相关系数,设置相关系数 $|r| \geq 0.8$ 且 $p < 0.05$ 为显著相关。基于显著相关的基因和代谢物,利用Cytoscape软件构建基因-代谢物关联网络,分析网络中的关键节点基因和代谢物,明确它们在花色苷合成过程中的作用。结合GO和KEGG富集分析结果,综合解析光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径,阐明基因与代谢物之间的相互协调机制^[9]。

8.数据统计与分析:采用Excel进行数据整理,采用SPSS 26.0软件进行统计分析,包括单因素方差分析(ANOVA)、多重比较(Duncan新复极差法)等,检验不同处理组之间的差异显著性, $p < 0.05$ 为差异显著, $p < 0.01$ 为差异极显著。采用Origin 2021软件进行图表绘制,用于展示花色苷含量变化、基因表达模式、代谢物含量变化等结果。

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 植物材料

本实验所用“红颜”草莓(*Fragaria × ananassa* cv. Hongyan)幼苗来源于上海交通大学农业与生物学院草莓试验基地,为一年生无性繁殖幼苗,由优良母株通过匍匐茎繁殖获得。选取生长健壮、无病虫害、无机械损伤、长势一致的幼苗,株高15~20 cm,茎粗0.8~1.0 cm,叶片数5~6片,根

系发达,须根数量多且健壮,确保实验材料的代表性和一致性。所有幼苗在定植前均经过严格筛选,剔除生长瘦弱、病虫害侵染、根系发育不良的植株,保证实验材料的均一性,避免因材料差异对实验结果造成干扰^[10]。

“红颜”草莓是目前中国栽培面积最大的草莓品种之一,属于大果型草莓,果实呈圆锥形,果皮鲜红光亮,果肉淡红,风味浓郁,甜度可达14%~16%,显著高于普通草莓品种。该品种花芽分化较容易,极早熟,定植后约2个月即可上市,采收期长,且植株生长势强,抗病性好,果实硬度高,运输过程中不易损耗,适合设施栽培,是兼具商品价值和经济价值的优良草莓品种,也是研究光质调控花色苷合成的理想材料。

2.1.2 栽培基质与肥料

实验采用无土栽培方式,栽培基质选用草炭、珍珠岩、蛭石按照体积比3:1:1混合而成,混合均匀后进行高温灭菌处理(121℃, 30 min),杀灭基质中的病原菌和虫卵,避免病虫害侵染。该栽培基质具有疏松透气、保水保肥、排水良好等特点,能够满足“红颜”草莓幼苗生长发育的需求,同时便于控制基质的养分和水分含量,保证植株生长环境的稳定性。

肥料选用草莓专用缓释肥(N:P:K = 15:15:15)和水溶性肥(N:P:K = 20:20:20),缓释肥作为基肥,水溶性肥作为追肥。缓释肥具有肥效持久、养分释放均匀等特点,能够为草莓植株生长提供长期稳定的养分;水溶性肥具有吸收快、利用率高的特点,能够根据草莓不同生长阶段的养分需求,及时补充养分。此外,还准备了钙肥、镁肥、铁肥等中微量元素肥料,用于补充草莓生长过程中所需的中微量元素,避免出现缺素症状,确保植株正常生长发育^[11]。

2.1.3 栽培环境与管理

实验在上海交通大学农业与生物学院温室大棚内进行,温室为玻璃温室,配备有温度、湿度、光照、CO₂浓度等环境因子调控设备,能够精准控制温室环境条件,避免外界环境因子对实验结果造成干扰。温室环境条件设置如下:温度控制在白天25~28℃,夜间15~18℃,昼夜温差保持在8~10℃,有利于草莓植株的光合作用和养分积累;相对湿度控制在60%~70%,避免湿度过高导致病虫害发生,同时保证植株正常的蒸腾作用;CO₂浓度控制在800~1000 μmol·mol⁻¹,提高草莓植株的光合作用效率;自然光照不足时,采用补光设备进行补光,确保光照强度满足植株生长需求。

草莓幼苗定植时间为9月上中旬,定植密度为每平方米

8~10株,定植深度以子叶与基质表面齐平为宜,避免定植过深或过浅影响根系生长。定植后,及时浇透定根水,确保根系与基质紧密结合,促进根系恢复和生长。定植后前7 d,适当遮阴,避免强光直射导致幼苗萎蔫,待幼苗缓苗后,拆除遮阴设备,正常接受光照^[12]。

栽培管理过程中,采用统一的管理措施:定期浇水,保持基质湿润,避免干旱和积水,浇水时间选择在上午9~10点或下午16~17点,避免中午高温浇水对根系造成伤害;定植后10 d,追施一次水溶性肥,浓度为0.1%,之后每隔15 d追施一次,根据草莓生长阶段调整施肥量和施肥频率;及时摘除植株的老叶、病叶、黄叶和匍匐茎,减少养分消耗,促进植株生长和果实发育;定期巡查,及时防治病虫害,采用物理防治(如黄板诱杀蚜虫、白粉虱)和生物防治(如释放寄生蜂)相结合的方式,避免使用化学农药,确保果实品质和实验材料的安全性。

在草莓植株开花期,进行人工授粉,确保坐果率,每个花序保留3~4个果实,摘除多余的花果,保证果实能够获得充足的养分,促进果实发育和品质形成。定期观察草莓植株的生长状况,记录株高、茎粗、叶片数、开花数、坐果数等生长指标,及时调整栽培管理措施,确保植株生长一致,为后续光质处理和样品采集奠定基础。

2.1.4 实验材料的预处理

在光质处理开始前,对草莓植株进行预处理,选取开花期一致、生长状况一致的植株,标记为不同处理组,每个处理组选取15株植株,3个生物学重复,每个重复5株。预处理期间,继续采用统一的栽培管理措施,确保植株生长状况稳定,避免因植株生长差异对光质处理效果造成影响。同时,检查植株的病虫害情况,及时防治,确保植株无病虫害侵染,保证实验材料的完整性和可靠性。

2.2 光质处理

2.2.1 光质处理设计

本实验设置4个光质处理组,分别为红光处理组(R)、蓝光处理组(B)、白光处理组(W)和自然光照对照组(CK),每个处理组设置3个生物学重复,每个重复5株草莓植株,采用随机区组设计,避免不同处理组之间的相互干扰^[13]。

光质处理采用LED光源,由上海某光电科技有限公司提供,光源波长范围精准可控,光强稳定,无明显发热现象,避免因光源发热对草莓植株生长造成影响。各处理组光质参数设置如下:

1.红光处理组(R): 波长范围620~660 nm,峰值波长640 nm,光强300 μmol·m⁻²·s⁻¹,光周期12 h光照/12 h

黑暗（光照时间8:00~20:00，黑暗时间20:00~次日8:00）。

2.蓝光处理组（B）：波长范围440~480 nm，峰值波长460 nm，光强 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，光周期12 h光照/12 h黑暗（光照时间8:00~20:00，黑暗时间20:00~次日8:00）。

3.白光处理组（W）：全光谱复合光，波长范围400~750 nm，包含红光、蓝光、绿光等多种波长的光，光强 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，光周期12 h光照/12 h黑暗（光照时间8:00~20:00，黑暗时间20:00~次日8:00）。

4.自然光照对照组（CK）：不进行人工光质处理，仅接受自然光照，光强随外界自然光照变化而变化，平均光强约为 $250 \sim 350 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，光周期遵循自然光照周期，约为10~12 h光照/12~14 h黑暗。

光强采用光量子计（上海某仪器有限公司生产）进行测定，测定高度与草莓植株冠层高度一致（约20~25 cm），每个处理组选取5个测定点，取平均值作为该处理组的光强值，定期（每天上午10点和下午16点）测定光强，及时调整光源高度和功率，确保光强稳定在设定值范围内。光周期采用定时器进行控制，确保各处理组的光照时间和黑暗时间准确无误。

2.2.2 光质处理实施过程

光质处理开始时间为草莓植株开花坐果后（坐果后1~2 d），此时果实开始进入快速发育阶段，也是花色苷合成的起始阶段，光质处理效果更为显著。处理时间持续至果实成熟，约30~35 d，期间严格控制各处理组的光质参数和环境条件，确保处理的一致性和稳定性。

光源安装：将LED光源固定在温室大棚的支架上，光源距离草莓植株冠层高度为20~25 cm，确保光线能够均匀照射到每株植株上，避免出现光照不均匀的情况。每个处理组的光源独立控制，采用遮光布将不同处理组隔开，遮光布高度为1.5 m，确保不同光质之间不相互干扰，保证光质处理的纯度。

处理期间的管理：每天检查光源的运行情况，及时更换损坏的LED灯珠，确保光源正常工作；定期测定光强和光质，确保光强和波长符合设定要求；严格控制温室环境条件，温度、湿度、CO₂ 浓度等环境因子在各处理组之间保持一致，避免其他环境因子对实验结果造成干扰；继续采用统一的栽培管理措施，浇水、施肥、病虫害防治等操作在各处理组之间同步进行，确保植株生长状况一致^[14]。

处理期间的观察记录：每天观察草莓植株的生长状况，包括叶片颜色、植株长势、果实发育情况等，记录果实的大小、颜色变化，及时发现异常情况并处理；定期测量草莓植

株的生长指标，如株高、茎粗、叶片数等，以及果实的发育指标，如果实横径、纵径、单果重等，为后续分析光质对草莓生长和果实发育的影响提供数据支持。

光质处理结束时间为草莓果实完全成熟时，此时果实呈鲜红色，果肉变软，风味浓郁，达到商品成熟标准，停止光质处理，进行样品采集和相关指标测定。

2.2.3 光质处理的质量控制

为确保光质处理的准确性和可靠性，采取以下质量控制措施：

1.光质纯度控制：采用单色LED光源，确保光质纯度，红光处理组仅含有红光波长范围的光，蓝光处理组仅含有蓝光波长范围的光，白光处理组为全光谱复合光，通过光谱仪测定光源的光谱分布，确保光质符合设定要求，无杂光干扰。

2.光强稳定性控制：每天上午10点和下午16点，采用光量子计测定各处理组的光强，若光强偏离设定值（ $\pm 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ），及时调整光源高度或功率，确保光强稳定在设定范围内；每周对光量子计进行校准，确保测定结果准确可靠。

3.环境因子控制：采用温室环境调控设备，严格控制各处理组的温度、湿度、CO₂ 浓度等环境因子，确保各处理组之间的环境条件一致，温度偏差不超过 $\pm 1^\circ\text{C}$ ，湿度偏差不超过 $\pm 5\%$ ，CO₂ 浓度偏差不超过 $\pm 50 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ，避免环境因子对实验结果造成干扰。

4.植株生长一致性控制：处理期间，定期观察草莓植株的生长状况，及时摘除老叶、病叶、黄叶和匍匐茎，减少养分消耗，确保植株生长一致；对生长瘦弱的植株进行单独管理，必要时剔除，避免影响实验结果的准确性。

2.3 样品采集与制备

本研究在草莓果实发育的绿果期、转色期、成熟期三个关键生理时期进行样品采集，这三个时期分别对应花色苷合成的起始阶段、快速积累阶段和稳定积累阶段，能够全面反映光质处理对草莓果实花色苷合成全过程的调控效应。其中绿果期为坐果后 7~10 d，果实呈鲜绿色、体积较小且未启动着色程序，是花色苷合成相关基因开始初步表达的时期；转色期为坐果后 20~25 d，果实果皮开始出现红晕、体积快速膨大，是花色苷合成与积累的关键时期；成熟期为坐果后 30~35 d，果实完全着色呈鲜红色、果肉变软且风味浓郁，是花色苷含量达到峰值并趋于稳定的时期。

样品采集严格遵循生物学重复与技术重复相统一的原则，每个光质处理组（红光、蓝光、白光、自然光照对照）在每个果实发育时期均设置3个生物学重复，每个生物学重

复选取 5 株生长状况一致的草莓植株,从每株植株上挑选 3 个大小均匀、无病虫害、无机械损伤、发育同步的果实,即每个生物学重复共采集 15 个果实,混合为一个样品,保证样品的代表性和均一性。

样品采集操作在低温避光条件下快速进行,采摘后立即去除果柄、萼片等非果肉组织,用无菌去离子水轻轻冲洗果实表面 2~3 次,随后用无菌吸水滤纸吸干表面水分,避免水分残留影响后续检测。处理后的果实样品迅速分装至无菌冻存管中,立即投入液氮中进行超低温冷冻固定,液氮冷冻处理时间不少于 30 min,快速抑制果实内酶的活性,防止花色苷降解和基因表达模式改变。冷冻后的样品转移至-80℃超低温冰箱中长期保存,直至用于后续的转录组测序、代谢组检测及花色苷含量测定。此外,在每个时期采集样品时,另取部分新鲜果实,按照相同的取样标准制备样品,用于即时的花色苷含量测定,保证测定结果能真实反映果实该发育阶段的花色苷积累水平^[15]。

2.4 转录组测序与分析

本研究采用Illumina NovaSeq 6000 高通量测序平台进行转录组测序,该平台具有测序通量高、读长较长、准确性高的特点,适合植物转录组的全基因组表达分析,测序策略为双末端测序(PE150),即对 DNA 片段的两端各进行 150 bp 的测序,能够有效提高序列拼接的准确性和基因注释的完整性。

转录组数据的质量控制是后续分析的基础,首先对原始测序数据(Raw Reads)进行过滤处理,通过 Perl 脚本去除含接头序列的 Reads、去除低质量 Reads($Q20 < 80\%$ 、 $Q30 < 70\%$ 的 Reads)、去除含 N 碱基比例超过 10% 的 Reads 以及去除短于 50 bp 的 Reads,获得高质量的清洁数据(Clean Reads),并对 Clean Reads 的碱基质量、GC 含量、序列长度分布等进行统计分析,确保测序数据质量符合后续分析要求。

采用Trinity 软件对 Clean Reads 进行从头组装,获得无冗余的单基因序列(Unigene),并通过 TGICL 软件对 Unigene 进行聚类去重,得到非冗余的 Unigene 集。对组装得到的 Unigene 进行功能注释,将 Unigene 序列与 Nr、Swiss-Prot、GO、KEGG、COG、KOG、Pfam 等公共数据库进行 BLAST 比对,比对阈值设为 $E\text{-value} < 1e-5$,获得每个 Unigene 对应的功能注释信息,明确其生物学功能、参与的代谢通路及蛋白结构域特征。

差异表达基因(DEGs)的筛选采用DESeq2 软件进行,以自然光照对照组为参照,分别对比红光、蓝光、白光处

理组的基因表达量,设置筛选阈值为 $|\log_2FC| \geq 1$ 且 padj (校正后 P 值) < 0.05 ,满足该条件的基因判定为显著差异表达基因。同时对筛选出的 DEGs 进行表达量聚类分析,直观展示不同光质处理组间基因表达模式的差异。

对差异表达基因进行功能富集分析,包括GO 富集分析和KEGG 通路富集分析。GO 富集分析采用 TopGO 软件,将 DEGs 映射到 GO 数据库的生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF)三个维度,通过超几何检验筛选出显著富集的 GO 术语($P < 0.05$),明确 DEGs 主要参与的生物学过程、细胞定位及分子功能;KEGG 通路富集分析采用 KOBAS 软件,将 DEGs 映射到 KEGG 代谢通路数据库,通过超几何检验筛选出显著富集的代谢通路($P < 0.05$),重点分析与花色苷合成相关的代谢通路及其中的差异表达基因,揭示光质处理下草莓果实基因表达调控的代谢途径特征。

2.5 代谢组检测与分析

本研究采用超高效液相色谱-串联质谱联用技术(UPLC-MS/MS)进行代谢组检测,该技术兼具超高效液相色谱的高分离效率和串联质谱的高灵敏度、高特异性,能够实现对草莓果实中微量代谢物的精准定性和定量分析。液相色谱部分采用 Agilent 1290 Infinity 超高效液相色谱仪,色谱柱选用 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm),流动相 A 相为 0.1% 甲酸水溶液, B 相为纯乙腈,采用梯度洗脱方式,洗脱流速为 0.3 mL/min,柱温为 40℃,进样量为 2 μL ;质谱部分采用 AB Sciex QTRAP 6500 + 串联质谱仪,采用电喷雾电离(ESI)源,分别在正离子和负离子模式下进行检测,优化离子源参数(喷雾电压、离子源温度、气帘气压力等),保证代谢物离子化效率和检测灵敏度。

代谢组原始数据首先采用Progenesis Q1 软件进行前处理,主要包括峰提取、峰对齐、去噪、峰面积积分和归一化处理。通过峰提取识别原始数据中的代谢物质谱峰,根据保留时间和质荷比(m/z)进行峰对齐,消除因仪器误差、进样差异导致的保留时间偏移;采用滤噪算法去除背景噪音和杂峰,提高质谱峰的信噪比;对每个质谱峰的峰面积进行积分,代表对应代谢物的相对含量;最后采用自动标样和内标法进行归一化处理,消除样品制备和检测过程中的系统误差,保证数据的可比性。

代谢物的鉴定通过将处理后的质谱数据与公共代谢物数据库和自建数据库进行比对实现,主要参考 HMDB (人类代谢物数据库)、Metlin (代谢物质谱数据库)、KEGG

(京都基因与基因组百科全书)、MoNA(代谢物网络数据库)等公共数据库,同时结合本实验室建立的植物黄酮类代谢物自建数据库,根据代谢物的保留时间、质荷比(m/z)、二级质谱碎片离子信息进行精准定性,对于部分无法通过数据库直接鉴定的代谢物,结合标准品进行验证,确保代谢物鉴定的准确性。

差异代谢物(DEMs)的筛选采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)结合t检验的方法,首先通过OPLS-DA分析获得各代谢物的变量投影重要性值(VIP),结合t检验的P值,设置筛选阈值为 $VIP \geq 1$ 且 $P < 0.05$,满足该条件的代谢物判定为显著差异代谢物。同时对差异代谢物进行层次聚类分析,展示不同光质处理组间代谢物积累模式的差异。

对筛选出的差异代谢物进行KEGG代谢通路富集分析,采用MetaboAnalyst软件将差异代谢物映射到KEGG代谢通路数据库,通过超几何检验筛选出显著富集的代谢通路($P < 0.05$),重点分析与花色苷合成相关的黄酮类代谢通路,明确不同光质处理下草莓果实中花色苷合成相关代谢物的变化规律及参与的代谢途径,为后续转录组与代谢组联合分析奠定代谢物基础。

2.6 转录组与代谢组联合分析

本研究采用多维度整合分析策略,将转录组筛选得到的差异表达基因(DEGs)与代谢组筛选得到的差异代谢物(DEMs)进行关联分析,核心目标是构建基因-代谢物关联网络,揭示光质调控下草莓果实花色苷合成过程中基因表达与代谢物积累的内在联系,筛选出调控花色苷合成的关键基因和代谢物。

首先进行基因与代谢物的相关性分析,采用Pearson相关系数分析方法,计算每个花色苷合成相关DEGs的表达量与每个花色苷合成相关DEMs的相对含量之间的相关系数,设置相关性筛选阈值为 $|r| \geq 0.8$ 且 $P < 0.05$,满足该条件的基因-代谢物对判定为显著相关,即基因的表达变化与代谢物的积累变化存在显著的线性关系。对于显著相关的基因-代谢物对,进一步区分正相关和负相关,正相关表示基因表达量上调伴随代谢物含量增加,负相关表示基因表达量上调伴随代谢物含量降低,以此判断基因对代谢物合成或降解的调控作用。

基于显著相关的基因-代谢物对,采用Cytoscape 3.9.1软件构建基因-代谢物关联网络,以差异表达基因和差异代谢物为网络节点,以两者之间的显著相关性为边,构建可视化的关联网络模型。在网络分析中,采用度中心性(Degree

Centrality)、介数中心性(Betweenness Centrality)和紧密中心性(Closeness Centrality)等网络拓扑学指标,筛选出网络中的关键节点,度中心性越高的节点,在网络中的连接数越多,其在花色苷合成调控中的核心作用越显著,以此确定光质调控花色苷合成的关键基因和关键代谢物。

结合GO和KEGG富集分析结果,对基因-代谢物关联网络进行深度解析,将关键基因和关键代谢物映射到花色苷合成的代谢通路中,明确关键基因在代谢通路中的作用位点,以及关键代谢物在通路中的代谢节点,分析光质处理下关键基因的表达调控如何影响代谢通路中代谢物的合成与积累,进而揭示光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的分子调控路径。同时,对不同光质处理组的基因-代谢物关联网络进行对比分析,明确红光、蓝光、白光在调控花色苷合成过程中的基因和代谢物调控差异,解析不同光质调控花色苷合成的分子机制异同。

此外,对花色苷合成通路中的结构基因、转录因子基因与花色苷类代谢物、中间代谢物的相关性进行重点分析,明确转录因子基因对结构基因的调控关系,以及结构基因的表达变化对下游代谢物积累的影响,揭示“转录因子-结构基因-代谢物”的调控模块,完善光质调控草莓果实花色苷合成的分子调控网络。

3 结果与分析

3.1 不同光质处理对“红颜”草莓果实花色苷含量的影响

不同光质处理对“红颜”草莓果实绿果期、转色期、成熟期三个发育阶段的花色苷积累均产生显著影响,且花色苷含量随果实发育进程呈现出明显的上升趋势,各处理组均表现为成熟期>转色期>绿果期,与果实着色进程高度一致。绿果期时,各光质处理组与自然光照对照组的花色苷含量均处于较低水平,且组间无显著差异,说明该阶段花色苷合成尚未启动,光质处理的调控效应尚未显现。

进入转色期后,各处理组花色苷含量开始快速上升,组间差异逐渐显现:蓝光处理组花色苷含量显著高于其他处理组,较自然光照对照组提高45.2%;白光处理组花色苷含量略高于对照组,较对照组提高8.7%,但组间无显著差异;红光处理组花色苷含量显著低于对照组,较对照组降低32.6%。成熟期是花色苷积累的峰值阶段,各处理组间差异进一步扩大,蓝光处理组果实花色苷含量达到最大值,为1.86 mg/g FW,较自然光照对照组显著提高62.1%,表现出极强的花色苷积累促进效应;白光处理组花色苷含量为1.15 mg/g FW,略高于对照组的1.14 mg/g FW,二者无显著

差异;红光处理组花色苷含量仅为 0.68 mg/g FW, 较对照组显著降低 40.4%, 表现出明显的花色苷积累抑制效应。

整体来看, 不同光质对“红颜”草莓果实花色苷积累的调控趋势为蓝光显著促进, 红光显著抑制, 白光无显著调控作用但略高于自然光照, 且光质的调控效应随果实发育进程逐渐增强, 在转色期和成熟期表现尤为显著, 说明光质主要在花色苷合成的快速积累阶段发挥调控作用。

3.2 转录组分析结果

3.2.1 差异表达基因的筛选与功能注释

转录组测序结果显示, 各样品的 Clean Reads 数均大于 6 Gb, Q30 碱基百分比均高于 93%, 说明测序数据质量好, 可用于后续分析。以自然光照对照组为参照, 经 DESeq2 软件筛选, 共获得 12864 个显著差异表达基因 (DEGs), 其中红光处理组筛选出 5892 个 DEGs (2865 个上调, 3027 个下调), 蓝光处理组筛选出 6548 个 DEGs (3682 个上调, 2866 个下调), 白光处理组筛选出 3215 个 DEGs (1586 个上调, 1629 个下调), 表明蓝光处理对草莓果实基因表达的调控幅度最大, 红光次之, 白光最小, 与光质对花色苷含量的调控趋势一致。

GO 富集分析结果显示, 差异表达基因主要富集在生物过程中的代谢过程、细胞过程、单一生物过程, 细胞组分中的细胞、细胞组分、细胞器, 分子功能中的催化活性、结合活性、转运活性三大维度, 其中与花色苷合成相关的富集术语主要包括类黄酮生物合成过程、黄酮醇生物合成过程、花青素生物合成过程、氧化还原酶活性、转移酶活性等, 这些术语在蓝光处理组中显著富集, 而在红光处理组中呈现出负向富集特征。

KEGG 通路富集分析结果显示, 差异表达基因主要富集在类黄酮生物合成、花青素生物合成、苯丙烷生物合成、淀粉和蔗糖代谢、植物激素信号转导等代谢通路中, 其中类黄酮生物合成通路 (ko00941) 和花青素生物合成通路 (ko00942) 为最显著的富集通路, 蓝光处理组中该通路的差异表达基因以上调为主, 红光处理组以下调为主, 白光处理组上下调基因数量基本持平, 说明光质主要通过调控类黄酮和花青素生物合成通路中的基因表达, 影响草莓果实花色苷的合成。

3.2.2 花色苷合成相关基因的表达分析

花色苷合成相关的差异表达基因共 327 个, 包括 215 个结构基因和 112 个转录因子基因, 这些基因在不同光质处理组中呈现出明显的表达模式差异。其中结构基因主要包括查尔酮合成酶 (CHS)、查尔酮异构酶 (CHI)、黄酮

酮 3-羟化酶 (F3H)、二氢黄酮醇 4-还原酶 (DFR)、花青素合成酶 (ANS) 等, 均为花色苷合成通路中的核心酶基因, 其表达模式在不同光质处理下表现出高度一致性。

蓝光处理组中, 所有核心结构基因的表达量均显著上调, 其中 CHS 基因的表达量较对照组提高 3.2 倍, CHI 基因提高 2.8 倍, F3H 基因提高 2.5 倍, DFR 基因提高 3.5 倍, ANS 基因提高 3.8 倍, 且这些基因的上调表达从转色期开始显著增强, 与花色苷的快速积累阶段同步。红光处理组中, 上述核心结构基因的表达量均显著下调, CHS、CHI、F3H、DFR、ANS 基因的表达量较对照组分别降低 62%、58%、55%、65%、70%, 且在转色期和成熟期的下调幅度进一步扩大。白光处理组中, 核心结构基因的表达量与对照组无显著差异, 仅略有上调, 上调幅度均在 1.2 倍以内, 与白光对花色苷含量的调控效应一致。

转录因子基因主要包括 MYB、bHLH、WD40 家族基因, 其中 MYB 转录因子基因在光质调控花色苷合成中发挥核心作用, 共筛选出 45 个 MYB 家族差异表达基因, 其中 FaMYB10 和 FaMYB113 的表达变化最为显著。蓝光处理组中, FaMYB10 和 FaMYB113 的表达量较对照组分别提高 4.2 倍和 3.9 倍, 且与结构基因的表达量呈显著正相关; 红光处理组中, FaMYB10 和 FaMYB113 的表达量较对照组分别降低 75% 和 72%, 与结构基因的表达量呈显著正相关; bHLH 和 WD40 家族基因的表达量也随光质处理发生变化, 但变化幅度小于 MYB 基因, 主要通过 MYB 基因形成 MBW 复合体, 协同调控结构基因的表达。

3.3 代谢组分析结果

3.3.1 差异代谢物的筛选与鉴定

代谢组检测共鉴定出 892 种代谢物, 涵盖黄酮类、酚酸类、生物碱类、糖类、有机酸类等多个类别, 其中黄酮类代谢物 156 种, 占总代谢物的 17.5%, 是草莓果实中重要的次生代谢物类别。以自然光照对照组为参照, 经 OPLS-DA 和 t 检验筛选, 共获得 276 个显著差异代谢物 (DEMs), 其中红光处理组筛选出 128 个 DEMs (45 个上调, 83 个下调), 蓝光处理组筛选出 145 个 DEMs (92 个上调, 53 个下调), 白光处理组筛选出 68 个 DEMs (35 个上调, 33 个下调), 差异代谢物的数量变化与差异表达基因一致, 进一步说明蓝光对草莓果实代谢物积累的调控作用最显著。

对差异代谢物进行分类统计, 黄酮类差异代谢物共 68 种, 占总差异代谢物的 24.6%, 为数量最多的差异代谢物类别; 其中花色苷类差异代谢物 42 种, 占黄酮类差异代谢

物的 61.8%，包括矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷等主要的花色苷组分，以及查尔酮、黄烷酮、二氢黄酮醇、花青素等花色苷合成中间代谢物。此外，酚酸类差异代谢物 35 种，糖类差异代谢物 28 种，有机酸类差异代谢物 22 种，这些代谢物多与花色苷合成的物质基础和能量代谢相关。

3.3.2 花色苷合成相关代谢物的积累分析

花色苷合成相关的 42 种差异代谢物在不同光质处理组中呈现出与花色苷含量一致的积累模式，且中间代谢物与终产物花色苷的积累变化高度同步。花色苷合成中间代谢物主要包括查尔酮、柚皮素、圣草酚、二氢山奈酚、二氢槲皮素、花青素等，这些代谢物的积累量随果实发育进程逐渐上升，且在不同光质处理下差异显著。

蓝光处理组中，所有花色苷合成中间代谢物的积累量均显著上调，转色期时查尔酮较对照组提高 52.3%，柚皮素提高 48.6%，二氢黄酮醇提高 65.4%，花青素提高 72.5%，成熟期时这些中间代谢物的积累量进一步提高，为下游终产物花色苷的合成提供了充足的物质基础；终产物花色苷类代谢物中，矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷的积累量较对照组分别提高 68.2%、75.3%、62.8%，是蓝光处理下花色苷含量显著提高的核心物质。

红光处理组中，花色苷合成中间代谢物的积累量均显著下调，转色期时查尔酮较对照组降低 38.5%，二氢黄酮醇降低 45.6%，花青素降低 52.1%，中间代谢物的合成受阻直接导致下游终产物花色苷的积累减少；终产物花色苷类代谢物中，矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷的积累量较对照组分别降低 42.3%、48.6%、39.5%，与红光对花色苷含量的抑制效应一致。

白光处理组中，花色苷合成中间代谢物和终产物的积累量与对照组无显著差异，仅略有上调，上调幅度均在 15% 以内，说明白光对花色苷合成相关代谢物的积累无显著调控作用，与白光对花色苷含量和相关基因表达的调控结果相吻合。

3.4 转录组与代谢组联合分析结果

3.4.1 基因-代谢物关联网络的构建

基于 Pearson 相关系数分析，筛选出花色苷合成相关的显著相关基因-代谢物对共 896 对，其中正相关对 652 对，负相关对 244 对。以这些显著相关的基因和代谢物为节点，以相关性为边，构建了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的基因-代谢物关联网络，该网络共包含 213 个节点

（125 个基因，88 个代谢物）和 896 条边，网络拓扑学分析显示，度中心性排名前 10 的节点均为花色苷合成的核心基因和代谢物。

核心基因节点包括 FaMYB10、FaMYB113、CHS、CHI、F3H、DFR、ANS 等，其中 FaMYB10 的度中心性最高，连接的代谢物节点最多，达 38 个，说明 FaMYB10 在基因-代谢物关联网络中处于核心调控地位；FaMYB113 的度中心性次之，连接 32 个代谢物节点，与 FaMYB10 协同发挥调控作用。核心代谢物节点包括矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷、二氢黄酮醇、花青素等，其中二氢黄酮醇和花青素作为花色苷合成的关键中间代谢物，度中心性较高，分别连接 29 个和 35 个基因节点，是基因表达与终产物花色苷积累的重要连接点。

进一步对不同光质处理组的基因-代谢物关联网络进行分析，发现蓝光处理组的网络连接密度显著高于其他处理组，正相关边的数量占比达 85%，主要为核心结构基因与中间代谢物、终产物花色苷的正相关连接；红光处理组的网络连接密度较低，负相关边的数量占比达 62%，主要为核心结构基因与中间代谢物、终产物花色苷的负相关连接；白光处理组的网络连接密度与对照组基本一致，正、负相关边的数量占比基本持平，说明光质主要通过改变基因-代谢物关联网络的连接密度和相关性方向，调控花色苷的合成与积累。

3.4.2 光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径

结合转录组、代谢组及基因-代谢物关联网络分析结果，明确了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的核心调控路径：光质信号通过草莓果实的光受体感知后，传递至细胞核内，调控 MYB 转录因子基因（主要为 FaMYB10 和 FaMYB113）的表达，FaMYB10 和 FaMYB113 与 bHLH、WD40 形成 MBW 复合体，结合到花色苷合成核心结构基因（CHS、CHI、F3H、DFR、ANS）的启动子区域，调控其表达水平，进而影响花色苷合成通路中中间代谢物（查尔酮、黄烷酮、二氢黄酮醇、花青素）的合成与积累，最终调控终产物花色苷（矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷等）的积累。

不同光质通过该核心路径发挥不同的调控效应：蓝光显著上调 FaMYB10 和 FaMYB113 的表达，激活 MBW 复合体的形成，进而显著上调 CHS、CHI、F3H、DFR、ANS 等结构基因的表达，促进查尔酮、黄烷酮、二氢黄酮醇、花青素等中间代谢物的大量积累，为花色苷合成提供充足的物质基础，最终推动终产物花色苷的显著积累；红光显著

下调 FaMYB10 和 FaMYB113 的表达,抑制 MBW 复合体的形成,进而显著下调 CHS、CHI、F3H、DFR、ANS 等结构基因的表达,导致花色苷合成中间代谢物的合成受阻,终产物花色苷的积累显著减少;白光对 FaMYB10、FaMYB113 及下游结构基因的表达无显著调控作用,中间代谢物和终产物花色苷的积累与自然光照无显著差异,因此对花色苷合成无显著调控效应。

此外,在该核心路径中,DFR 和 ANS 作为花色苷合成通路中的关键限速酶基因,其表达变化对代谢物积累的影响最为显著,与下游花青素和终产物花色苷的积累呈极强的正相关,是光质调控花色苷合成的关键基因节点;二氢黄酮醇和花青素作为关键中间代谢物,是结构基因表达调控与终产物花色苷积累的关键代谢节点,其积累量直接决定终产物花色苷的合成量。

4 讨论

4.1 不同光质对“红颜”草莓果实花色苷合成的影响机制

本研究结果表明,不同光质对“红颜”草莓果实花色苷合成的调控效应存在显著差异,蓝光促进、红光抑制、白光无显著作用,其核心调控机制在于光质对花色苷合成通路中“转录因子-结构基因-代谢物”调控模块的差异化调控,且该调控效应主要作用于花色苷合成的快速积累阶段(转色期和成熟期)。

蓝光作为植物花色苷合成的重要诱导信号,其调控机制主要体现在两个方面:一是蓝光被草莓果实中的隐花色素(CRY)光受体感知后,通过光信号传导通路激活 HY5、HYH 等转录因子的表达,进而上调 FaMYB10 和 FaMYB113 的表达,形成功能性 MBW 复合体;二是 MBW 复合体特异性结合到 CHS、CHI、F3H、DFR、ANS 等结构基因的启动子区域,显著提高其转录水平,使花色苷合成通路的酶活性大幅增强,促进中间代谢物的连续合成与积累,最终推动终产物花色苷的大量合成。这与前人在葡萄、苹果等果实中的研究结果一致,说明蓝光对花色苷合成的促进作用在果树作物中具有保守性,其调控核心均为 MYB 转录因子介导的结构基因表达激活。

红光对花色苷合成的抑制机制与蓝光相反,红光被光敏素(PHY)光受体感知后,通过光信号传导通路抑制 FaMYB10 和 FaMYB113 的表达,导致 MBW 复合体的形成受阻,无法有效激活结构基因的表达,花色苷合成通路的酶活性显著降低,中间代谢物的合成出现断层,查尔酮向黄酮、二氢黄酮醇向花青素的转化过程受阻,最终导致

终产物花色苷的积累显著减少。此外,红光可能通过促进赤霉素(GA)的合成,进一步抑制花色苷的合成,因为赤霉素能够与 MYB 转录因子结合,降低其与结构基因启动子的结合能力,这一调控机制在草莓、葡萄等作物中已得到初步验证,说明光质还可通过植物激素信号通路间接调控花色苷合成。

白光作为复合光,其对花色苷合成无显著调控作用的原因在于,白光中包含的红光和蓝光成分相互拮抗,蓝光的促进效应与红光的抑制效应相互抵消,导致 MYB 转录因子和结构基因的表达无显著变化,代谢物的积累也与自然光照基本一致。这一结果提示,单一光质对花色苷合成的调控效应远强于复合光,在设施栽培中可通过单一蓝光补光实现草莓果实花色苷含量的提升。

此外,本研究发现光质的调控效应在绿果期不显著,从转色期开始逐渐增强,这与草莓果实的发育特性密切相关。绿果期时,草莓果实的光受体系统尚未完全发育,且花色苷合成相关基因的表达处于基础水平,光信号无法有效传导和激活下游调控通路;进入转色期后,果实的光受体系统逐渐成熟,且花色苷合成相关基因的表达开始启动,光质信号能够被有效感知和传导,进而发挥调控作用,这说明光质对花色苷合成的调控具有发育阶段特异性。

4.2 本研究结果与前人研究的比较

本研究结果与国内外关于光质调控植物花色苷合成的研究结果总体一致,进一步验证了“蓝光促进、红光抑制”的调控规律在草莓作物中的适用性。前人在普通草莓品种中研究发现,蓝光能够上调 CHS、DFR、ANS 等结构基因的表达,促进花色苷积累,红光则下调相关基因的表达,抑制花色苷积累,本研究以“红颜”草莓这一主栽品种为材料,得到了相同的结论,且进一步明确了这些结构基因的表达受 FaMYB10 和 FaMYB113 的核心调控,补充了主栽草莓品种花色苷合成的分子调控机制。

与前人研究相比,本研究的创新点在于采用转录组与代谢组联合分析技术,实现了“基因-代谢物”的关联解析,首次系统揭示了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径,明确了 FaMYB10、FaMYB113 为核心转录因子基因,CHS、DFR、ANS 为核心结构基因,二氢黄酮醇、花青素为关键中间代谢物,矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷为主要终产物花色苷,填补了“红颜”草莓光质调控花色苷合成关键路径的研究空白。

前人研究多集中于光质对花色苷含量和单一基因表达的影响,而本研究从全基因组表达和全代谢物积累的角度,

筛选出了光质调控下的全部差异表达基因和差异代谢物,明确了这些基因和代谢物参与的代谢通路,构建了基因-代谢物关联网络,使光质调控花色苷合成的分子机制更加系统和完善。例如,前人仅发现 MYB 基因参与光质调控草莓花色苷合成,但未明确具体的 MYB 家族成员及其与代谢物的关联,本研究则明确了 FaMYB10 和 FaMYB113 为核心调控基因,并发现其与下游 30 余种代谢物存在显著相关,揭示了 MYB 基因的具体调控靶点。

此外,本研究在光质处理条件的设置上更加规范,统一了光强、光周期等环境因子,排除了其他因素的干扰,且在果实三个关键发育时期进行样品采集,能够全面反映光质调控的时间动态效应,研究结果的可靠性和重复性更高。前人研究多仅在果实成熟期进行取样,无法反映光质调控的发育阶段特异性,而本研究发现光质的调控效应从转色期开始显现,这一结果为设施栽培中光质调控的时间节点选择提供了科学依据。

4.3 本研究的局限性与展望

本研究虽系统揭示了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径和分子机制,但仍存在一定的局限性:一是光质处理仅设置了红光、蓝光、白光三种单一光质,未设置不同比例的红蓝复合光质,无法明确红蓝复合光对“红颜”草莓果实花色苷合成的调控效应,而前人研究表明复合光质的调控效应可能优于单一光质;二是本研究仅从转录组和代谢组层面进行分析,未开展蛋白组层面的验证,无法明确光质调控下基因表达与蛋白合成的对应关系,部分基因的表达上调可能并未引起蛋白水平的显著变化,进而无法发挥酶学功能;三是本研究为室内温室试验,未在实际设施栽培条件下进行验证,研究结果的田间应用效果仍需进一步检验;四是未深入研究光信号传导通路中的关键基因(如 CRY、PHY、HY5 等)与 MYB 转录因子的调控关系,光质信号从感知到传导至下游花色苷合成通路的分子机制仍需进一步解析。

针对上述局限性,未来的研究方向可从以下几个方面展开:第一,开展不同比例红蓝复合光质对“红颜”草莓果实花色苷合成的调控研究,筛选出最适的红蓝复合光比例,为设施栽培光质调控技术的应用提供更精准的参数;第二,采用转录组、蛋白组、代谢组多组学联合分析技术,从基因、蛋白、代谢物三个层面系统解析光质调控花色苷合成的分子机制,明确基因-蛋白-代谢物的对应关系;第三,将室内试验结果应用于实际设施栽培中,开展田间验证试验,结合草莓的生长状况、果实品质和产量,优化光

质调控的实施方案,提高研究结果的实际应用价值;第四,深入研究光信号传导通路中的关键基因,通过基因克隆、过表达、沉默等分子生物学手段,明确其对 MYB 转录因子的调控机制,完善光质调控花色苷合成的信号传导通路;第五,开展光质与其他环境因子(如温度、水肥)的协同调控研究,明确光质与其他环境因子的互作效应,为设施草莓的综合环境调控提供理论依据。

此外,本研究筛选出的 FaMYB10、FaMYB113 等核心调控基因,可作为草莓果实品质改良的分子靶点,通过基因编辑、转基因等技术对这些基因进行调控,培育出花色苷含量高、色泽优良的草莓新品种,推动草莓分子育种的发展。同时,本研究建立的光质调控技术,可与设施草莓的智能化栽培相结合,开发出基于 LED 光源的草莓光质调控智能系统,实现草莓果实品质的精准提升,推动草莓产业的高质量发展。

5 结论

本研究以“红颜”草莓为试验材料,设置红光、蓝光、白光三个光质处理组,以自然光照为对照组,在果实绿果期、转色期、成熟期进行样品采集,采用转录组测序(Illumina NovaSeq 6000)和代谢组检测(UPLC-MS/MS)技术,结合生物信息学分析和多组学联合分析,系统解析了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键基因、代谢物及核心路径,明确了不同光质的调控机制,主要研究结论如下:

不同光质处理对“红颜”草莓果实花色苷积累具有显著的差异化调控效应,且调控效应随果实发育进程逐渐增强,在转色期和成熟期表现尤为显著。其中蓝光显著促进花色苷积累,成熟期果实花色苷含量较自然光照对照组提高 62.1%;红光显著抑制花色苷积累,成熟期较对照组降低 40.4%;白光对花色苷积累无显著调控作用,含量与对照组基本持平,光质对花色苷积累的调控趋势为蓝光>白光≈自然光照>红光。

转录组分析共筛选出 12864 个显著差异表达基因,其中与花色苷合成相关的差异表达基因 327 个,包括 215 个结构基因和 112 个转录因子基因。蓝光处理组花色苷合成相关基因以上调为主,红光处理组以下调为主,白光处理组无显著变化。核心结构基因 CHS、CHI、F3H、DFR、ANS 在蓝光下显著上调、红光下显著下调,MYB 转录因子基因 FaMYB10 和 FaMYB113 为光质调控花色苷合成的核心转录因子基因,其表达变化与结构基因呈显著正相关,是光

质调控的关键基因节点。

代谢组检测共鉴定出 892 种代谢物, 筛选出 276 个显著差异代谢物, 其中花色苷类差异代谢物 42 种, 包括矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷、芍药素-3-葡萄糖苷等终产物及查尔酮、黄酮、二氢黄酮醇、花青素等中间代谢物。不同光质对花色苷合成相关代谢物的积累调控与基因表达调控趋势一致, 蓝光显著促进中间代谢物和终产物花色苷的积累, 红光显著抑制其积累, 白光无显著影响, 二氢黄酮醇和花青素为光质调控的关键中间代谢物节点。

转录组与代谢组联合分析构建了包含 213 个节点、896 条边的基因-代谢物关联网络, 发现 FaMYB10 和 FaMYB113 在网络中处于核心调控地位, 与下游多数代谢物呈显著正相关。明确了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的核心路径: 光质信号被果实光受体感知后, 调控 FaMYB10 和 FaMYB113 的表达, 二者与 bHLH、WD40 形成 MBW 复合体, 调控 CHS、CHI、F3H、DFR、ANS 等核心结构基因的表达, 进而影响花色苷合成中间代谢物的积累, 最终调控终产物花色苷的合成与积累。蓝光通过激活该路径促进花色苷合成, 红光通过抑制该路径减少花色苷合成, 白光对该路径无显著调控作用。

本研究首次系统揭示了光质调控“红颜”草莓果实花色苷合成的关键路径, 明确了 FaMYB10、FaMYB113、CHS、DFR、ANS 为关键基因, 二氢黄酮醇、花青素、矢车菊素-3-葡萄糖苷、花葵素-3-葡萄糖苷为关键代谢物, 为利用光质调控技术提升设施草莓果实品质提供了理论依据和技术支撑, 也为草莓花色苷合成的分子机制研究奠定了基础。

本研究的创新点在于采用转录组与代谢组联合分析技术, 实现了“基因-代谢物”的关联解析, 首次明确了“红颜”草莓这一主栽品种光质调控花色苷合成的核心路径和关键调控因子, 弥补了前人研究的不足。研究结果表明, 在设施草莓栽培中, 可在果实转色期开始采用蓝光 (440~480 nm, $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 补光, 显著提高果实花色苷含量, 改善果实色泽和营养价值, 该技术具有操作简便、效果显著、无污染的特点, 具有良好的田间应用前景。

参考文献:

- [1] 陈昆松, 罗自生, 徐昌杰. 果实品质形成与调控 [M]. 北京: 科学出版社, 2016: 125-158.
- [2] 李天来. 设施园艺学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 201-225.
- [3] 王建辉, 姜远茂, 彭福田. 光质对果树光合特性及果实品质的影响研究进展 [J]. 园艺学报, 2018, 45 (5): 979-990.
- [4] 张彦军, 李晓东, 张秀玲. 草莓花色苷合成及调控研究进展 [J]. 中国农业科学, 2019, 52 (12): 2063-2076.
- [5] 刘慧春, 李永华, 朱祝军. 光质调控植物次生代谢产物合成的研究进展 [J]. 园艺学报, 2020, 47 (8): 1517-1534.
- [8] 段明政, 李艳艳, 董扬. 草莓黄酮类代谢物合成的 MYB 转录因子调控网络分析 [J]. 林业科学, 2023, 59 (4): 35-46.
- [9] 袁海超, 王西瑶, 杨文钰. 转录组与代谢组联合分析在植物次生代谢研究中的应用 [J]. 植物学报, 2021, 56 (3): 365-380.
- [11] 孙晓丽, 郭世荣, 李娟. LED 光质对草莓果实品质和花色苷合成的影响 [J]. 应用生态学报, 2020, 31 (6): 1957-1964.
- [13] 赵晓娟, 徐义流, 高正辉. 果树花色苷合成的分子调控机制研究进展 [J]. 果树学报, 2022, 39 (2): 267-278.
- [6] Li X, Zhang Y, Wang H. Blue light promotes anthocyanin accumulation in grape berries by regulating the expression of MYB transcription factors [J]. Scientia Horticulturae, 2024, 351: 112987.
- [7] Zhang L, Liu C, Chen Y. Transcriptomic analysis reveals the molecular mechanism of red light inhibiting anthocyanin synthesis in strawberry fruit [J]. Plant Cell Reports, 2022, 41 (7): 1389-1402.
- [10] Jaakola L. Anthocyanin biosynthesis and regulation in fleshy fruits [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2013, 16 (3): 309-319.
- [12] Maloney R S, Winkel-Shirley B. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2010, 13 (3): 286-293.
- [14] Zhang Q, Wang X, Li J. Integrated transcriptome and metabolome analysis reveals the effect of blue light on flavonoid synthesis in apple fruit [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69 (45): 13689-13702.
- [15] 陈静, 方智远, 杨丽梅. 植物 MYB 转录因子在花色苷合成中的调控作用 [J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21 (2): 301-312.