



水分胁迫对赤霞珠葡萄果实花色苷生物合成的影响

吕丹桂, 谢岳, 徐伟荣, 王振平

(宁夏大学 农学院, 银川 750021)

摘要 为研究不同水分胁迫对葡萄果实花色苷生物合成相关基因表达与总花色苷质量分数之间的关系。以3 a生‘赤霞珠’为试材,在果实转色前1周进行水分胁迫处理,测定了采收期葡萄果实百粒质量、可溶性固形物质量分数、可滴定酸质量浓度、总酚和单宁质量分数,用pH示差法和qRT-PCR技术分别检测果实总花色苷质量分数和花色苷合成相关基因的表达量。结果表明:轻度和中度胁迫降低了采收期果实百粒质量和可滴定酸质量浓度,增加了可溶性固形物质量分数、单宁和总酚质量分数。同时,轻度和中度胁迫也提高了果实成熟过程中总花色苷质量分数,在花后110 d达到最大,分别为0.241%和0.228%;轻度和中度胁迫上调了PAL、CHS1、DFR、F3'H、F3'5'H、UFGT和MybA1基因的表达量,其中花后90 d,CHS1、F3'H、F3'5'H和MybA1基因的表达量最高;花后100 d,PAL和DFR基因的表达量最高;花后110 d,UFGT基因的表达量最高。重度水分胁迫会降低果实成熟后期CHS1、F3'H、F3'5'H和UFGT表达量。相关性分析表明,中度水分胁迫CHS1表达量与总花色苷质量分数呈显著正相关,重度水分胁迫PAL和MybA1基因表达量与总花色苷质量分数呈显著正相关。轻度和中度水分胁迫促进葡萄花色苷生物合成中相关基因的表达,从而提高葡萄果实总花色苷质量分数。

关键词 水分胁迫;葡萄果实;花色苷;基因

中图分类号 S663.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2019)08-1274-08

花色苷是一种水溶性植物色素,属类黄酮的一个亚类,在葡萄果实表皮细胞的细胞质中合成,然后运输到液泡中贮藏^[1]。花色苷的质量浓度及组分不仅影响葡萄浆果的成熟度和品质,而且也影响葡萄酒的色泽、风味和营养价值^[2-3]。此外,花色苷还具有抗氧化,防治癌症,减轻炎症,抗疲劳等功能^[4-5],广泛用于医药及保健食品中。目前,对葡萄果实花色苷生物合成和果实着色机理的研究已较为清晰,花色苷生物合成分为2个阶段:第1个阶段是苯丙烷类代谢途径,第2个阶段是类黄酮途径^[6](图1),花色苷生物合成由结构基因和调节基因控制^[7],但也受温度、光照,水分及生长调节剂等环境因素的影响^[8-10]。

土壤水分质量浓度通过影响葡萄果实类黄酮物质的积累,从而影响葡萄与葡萄酒品质^[11]。调亏灌溉(regulated deficit irrigation,RDI)能显著增加葡萄果实花青素和酚类物质浓度,提高果实

品质^[12]。但目前,对于葡萄水分胁迫的研究主要集中在抗旱指标、光合特性、产量和果实品质等方面^[13-14],而对果实花色苷影响的研究较少。本研究以3 a生酿酒葡萄‘赤霞珠’(Vitis vinifera L. Cabernet Sauvignon)为试验材料,在葡萄转色前到成熟期,对其进行不同水分胁迫处理,通过研究不同水分胁迫对葡萄果实总花色苷质量分数以及花色苷合成相关基因表达的影响,分析花色苷合成过程中花色苷与相关基因表达量的关系,阐述水分胁迫对葡萄花色苷的调控机制,以期为酿酒葡萄水分管理及品质提升提供理论依据和技术指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验于2016年4月至9月在宁夏玉泉营农场(38.28°N,106.24°E)国家葡萄产业技术体系

收稿日期:2018-12-10 修回日期:2019-02-22

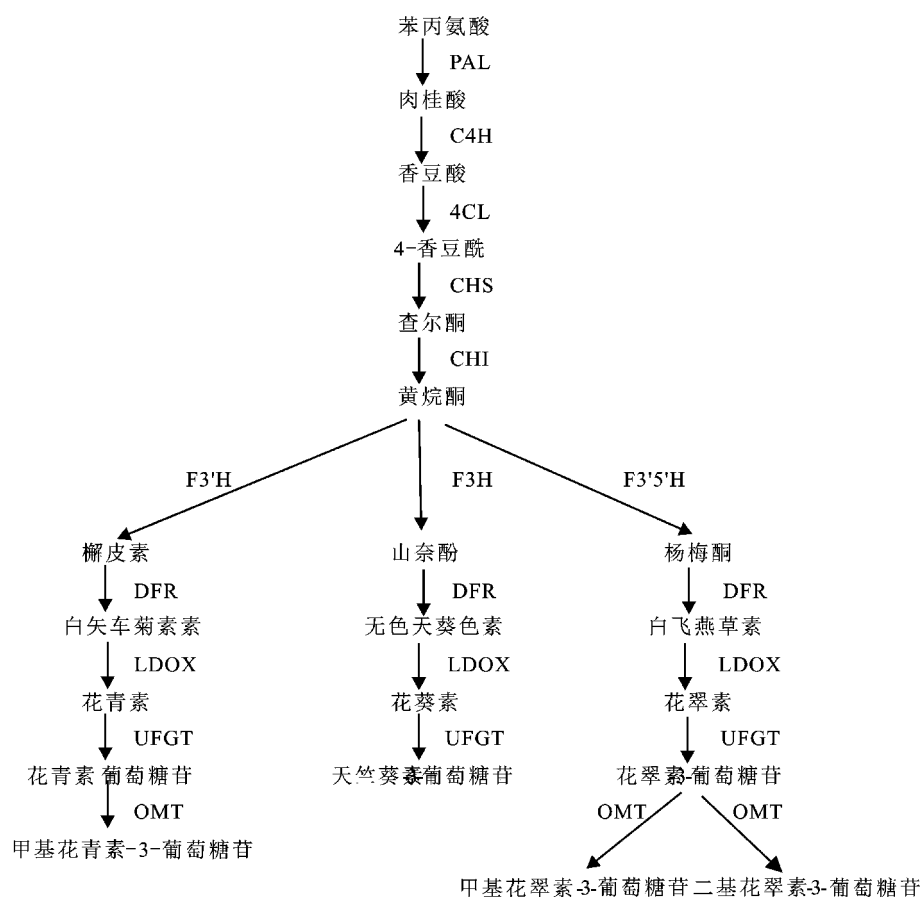
基金项目:国家现代农业产业技术体系(CARS-29-zp-03);国家自然科学基金(31660551)。

第一作者:吕丹桂,女,硕士研究生,研究方向为葡萄栽培学。E-mail:14804990@qq.com

通信作者:王振平,男,博士,研究员,博士生导师,主要从事葡萄栽培生理研究。E-mail:dr.wangzhp@163.com

水分生理与节水栽培岗位试验基地具有调控温湿度的玻璃温室中进行,以 3 a 生‘赤霞珠’葡萄 (*Vitis vinifera* L. Cabernet Sauvignon) 为材料,采用无土限根栽培模式,葡萄种植在长 4.0 m,宽 0.8 m,高 0.5 m 的种植槽中,每槽 8 株,株距 50 cm,杯状整形,每株留 5~6 个结果梢。槽内覆 2 层华盾 PE 耐老化(I)型棚膜,填充材料为蛭石、珍珠岩及草炭灰(1:1:1,V:V:V)。槽内采用时控仪控制器进行灌溉,每个槽有 2 列滴管,间距 20 cm,滴管直径 2 cm,滴头间距 50 cm,流量 3.1 L/min,每天 8:00 统一灌溉,灌溉液为改良霍格兰营养液。

该试验材料 2016-05-13 为盛花期 (full bloom, E-L23)^[15], 2016-07-12 为转色期 (véraison, E-L35), 于 2016-07-05 果实转色前 1 周(花后 53 d)开始试验处理,通过控制灌溉时间来控制灌水量,以黎明前叶片基础水势(Ψ_b)值大小反应胁迫程度,根据 Bahar 等^[16]研究,设置 4 个处理(表 1),每个处理占用 3 个木槽,即代表 3 次生物学重复。于 2016-07-12(60 d)开始采样,每 10 d 采样 1 次,直到 2017-09-02(110 d)果实成熟期,在各种植槽的每棵植株上,随机剪取果实,液氮速冻后,−80 °C 超低温冰箱保存,备用。



PAL. 苯丙氨酸裂解酶 Phenylalanine ammonia-lyase; C4H. 肉桂酸-4-羟化酶 Cinnamic acid 4-hydroxylase; 4CL. 4-香豆酸-CoA 连接酶 4-Coumarate-CoA ligase; CHS. 查尔酮合成酶 Chalcone synthase; CHI. 查尔酮异构酶 Chalcone isomerase; F3'H. 黄烷酮 3-羟化酶 Flavanone 3-hydroxylase; F3'H. 类黄酮 3'-羟化酶 Flavanone 3'-hydroxylase; F3'5'H. 类黄酮 3'5'-羟化酶 Flavanone 3'5'-hydroxylase; DFR. 黄烷酮 4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase; LDOX. 无色花色素双加氧酶 Leucoanthocyanidin dioxygenase; UFGT. 类黄酮葡萄糖转移酶 UDP glucose flavonoid glucosyl-transferase; OMT. O-甲基转移酶 O-methyltransferase

图 1 花色苷生物合成途径^[6]

Fig. 1 Anthocyanin biosynthesis pathway

1.2 测定项目与方法

1.2.1 葡萄果实品质指标及百粒质量测定 随机取 300 粒果实称量。可溶性固形物(TSS)质量

分数用 WYT-32 型手持糖量折光仪测定。可滴定酸采用 NaOH 滴定法测定。单宁采用福林丹尼斯法^[17]测定。总酚采用福林酚法^[17]测定。

1.2.2 总花色苷质量分数的测定 采用 pH 示差法^[18]测定总花色苷质量分数。

1.2.3 总 RNA 提取和 qRT-PCR 使用北京爱普拜生物有限公司的 PEXBIO 植物果实总 RNA 抽提试剂盒提取 RNA。使用 Takara 公司 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real time) 试剂盒反转录合成 cDNA。内参基因选取 *Actin* 和 *EF*。在 Genebank 中查找得到 *PAL*、*CHS1*、*F3'H*、*F3'5'H*、*DFR*、*UFGT* 和 *MybA1* 的特异性序列,然后登录 ht-

tp://www. idtdna. com/primerquest/Home/Index 进行引物设计,引物由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成(表 2)。qRT-PCR 反应体系:2×Ultra SYBR Mixture (CWBIO) 12.5 μL, ddH₂O 9.5 μL,模板 2 μL,引物 1 μL(上游引物和下游引物各 0.5 μL)。qRT-PCR 反应程序:95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,40 个循环,72 ℃ 熔解扩增产物 7 min。所有样品都设置 3 个重复,用 ddH₂O 代替 cDNA 作为 NTC 对照。采用 2^{-ΔΔCt} 法对数据进行计算^[19]。

表 1 不同处理叶片基础水势及日灌水量

Table 1 Basic water potential and daily irrigation of different treatments

处 理 Treatment	叶片基础水势(Ψb)/MPa ψ Basic water potential	灌水时间/(min/d) Irrigation time	灌水量/(L/d) Irrigation water
无胁迫(对照) No water stress(CK)	0 MPa≥ψb ≥-0.20 MPa	10	30.1
轻度胁迫 Mild water stress(T1)	-0.20 MPa≥ψb ≥-0.40 MPa	6	18.6
中度胁迫 Moderate water stress(T2)	-0.40 MPa≥ψb ≥-0.60 MPa	3	9.3
重度胁迫 Severe water stress(T3)	-0.60 MPa≥ψb	1	3.1

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 2 Primer sequences for real-time quantitative PCR

基因 Gene		引物序列(5'→3') Sequence of primer	登录号 Accession number
<i>VvPAL</i>	Forward	CGATATGCTCTCAGGACTTCAC	EF192469
	Reverse	GATCTCCCGTTTCGATGGATTT	
<i>VvCHS1</i>	Forward	GACGTCCCAGGGTTGATTT	AB015872
	Reverse	GCGATCCAGAACAAGGAGTT	
<i>VvF3'H</i>	Forward	GAGATCAACGGCTACACATC	AB213605
	Reverse	CCTGAATTCTAGTGCTTCTCC	
<i>VvF3'5'H</i>	Forward	GCTGGCACTAGAATGGGAATAG	DQ786631
	Reverse	CTCAACTCCATCCGGCATT	
<i>VvDFR</i>	Forward	ATACGGCAGGGCCAATTT	X75964
	Reverse	CGTGGGAGGAGCAAATGTAA	
<i>VvUFGT</i>	Forward	CTGGTAGCTGACGCATTCAT	DQ513314
	Reverse	GTAAACATGGGTGGAGAGTGAG	
<i>VvMYBA1</i>	Forward	GGCTTCTGGAGAGATGCTTAT	AB097923
	Reverse	CTCACCTCCCTGGATTTGTT	
<i>VvEF</i>	Forward	CAAGAGAAACCATCCCTAGCTG	AF176496
	Reverse	TCAATCTGTCTAGGAAAGGAAG	
<i>VvActin</i>	Forward	CTTGCATCCCTCAGCACCTT	EC969944
	Reverse	TCCTGTGGACAATGGATGGA	

1.3 数据处理

用 Microsoft office excel 2013 绘图;采用 Sigmaplot 12.5 进行数据处理,用 LSD 法进行 One Way ANOVO 分析。

2 结果与分析

2.1 不同水分胁迫处理对采收期葡萄果实组分的影响

由表 3 可知,T3 百粒质量显著低于 CK,且

T1、T2 和 T3 较 CK 分别降低 1.5%、11.1% 和 25.9%，表明葡萄果实百粒质量随水分胁迫程度的增加而降低，过度胁迫可抑制果实生长。T1 和 T2 的可溶性固形物质量分数显著高于 CK，分别比 CK 高 9.3% 和 5.7%；T3 则低于 CK，表明轻度和中度水分胁迫可提高果实 TSS 质量分数。T1 和 T2 的可滴定酸(TA)质量浓度低于 CK，表明轻度和中度水分胁迫会降低 TA 的质量浓度，

而 T3 极显著高于 CK，说明重度水分胁迫提高了 TA 质量浓度。单宁和总酚的质量分数均为 T1 显著高于 CK，分别较 CK 增加了 27.7% 和 35.8%，而 T2 与 CK 差异不显著，T3 的单宁和总酚质量分数则低于 CK，表明轻度水分胁迫有利于单宁和总酚的积累，而重度水分胁迫抑制了单宁和总酚的积累。

表 3 水分胁迫下采收期葡萄果实组分($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Fruit composition of grape at harvest stage in water stress

处 理 Treatment	百粒质量/g Hundred grain mass	可溶性固形物/% Total soluble solid	可滴定酸/(g/L) Titratable acid	单宁/(mg/g) Tannins	总酚/(mg/g) Total phenols
CK	142.69±0.14 Aa	20.53±0.42 ABb	3.75±0.11 Bb	1.48±0.03 Ab	2.12±0.05 ABb
T1	140.49±0.16 Aab	22.66±0.57 Aa	3.56±0.13 Bb	1.89±0.07 Aa	2.88±0.07 Aa
T2	126.84±0.33 Aab	21.71±0.16 Aab	3.19±0.09 Bc	1.66±0.05 Aab	1.97±0.12 ABbc
T3	105.79±0.37 Ab	17.31±0.32 Bc	4.50±0.04 Aa	1.34±0.09 Ab	1.78±0.05 Bc

注:同列不同小写字母表示差异达到 0.05 显著水平,不同大写字母表示差异达到 0.01 显著水平。

Note: Different lowercase letters in each column mean significant different at 0.05 level, different capitals mean significant different at 0.01 level.

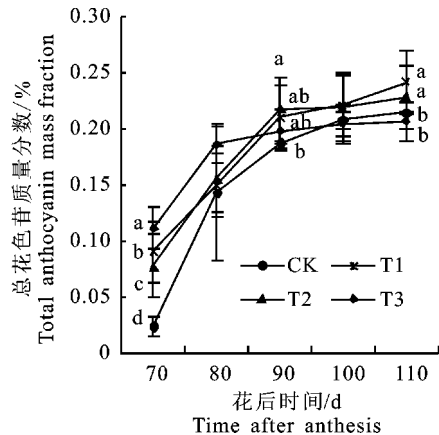
2.2 水分胁迫对葡萄果实总花色苷质量分数的影响

葡萄果实总花色苷质量分数随着葡萄果实的成熟呈上升趋势(图 2)。不同水分胁迫处理对总花色苷质量分数的影响不同。从 70 d 至 110 d, T1 和 T2 总花色苷质量分数均高于 CK, 在 110 d 达到最大, 且显著高于 CK, 分别为 0.241% 和 0.288%, T3 除在 70 d 和 80 d 高于 CK 外, 而其余时间均低于 CK, 表明轻度和中度水分胁迫能增加果实总花色苷质量分数, 短期的重度胁迫也可以增加总花色苷质量分数, 但长期的重度胁迫则不利于其积累。

2.3 水分胁迫对葡萄果实花色苷生物合成相关基因表达量的影响

在葡萄果实转色后, 与花色苷生物合成相关基因的表达式均呈现逐渐上升后下降的趋势(图 3)。不同程度水分胁迫处理对相关基因表达式的影响不同。T1、T2 和 T3 处理 PAL 基因相对表达式从 70 d 至 110 d 均高于 CK, 表明水分胁迫处理导致 PAL 基因表达量的增加。T1 和 T2 组 CHS1、DFR、F3'H、F3'5'H、UFGT 和 MybA1 基因相对表达式在 70 d 至 110 d 也基本上均高于 CK, 但 T3 组基本上在 100 d 至 110 d 低于 CK, 表明轻度和中度水分胁迫能使 CHS1、DFR、F3'H、F3'5'H、UFGT 和 MybA1 基因

的表达式增加, 而重度水分胁迫会降低果实成熟后期 CHS1、F3'H、F3'5'H 和 UFGT 表达式而降低了总花色苷质量分数。



小写字母表示显著差异 ($P \leq 0.05$), 未标注字母表示差异不显著, 下同

Lowercase letters mean significant differences ($P \leq 0.05$), unmarked letters mean no significant differences. The same below

图 2 水分胁迫下葡萄果实总花色苷质量分数

Fig. 2 Total anthocyanin mass fraction of grape berries in water stress

2.4 葡萄果实总花色苷质量分数与花色苷生物合成相关基因相对表达式的相关性分析

在果实成熟过程中, 花色苷合成与其相关基因的相对表达式具有一定的相关性(表 4), 其中, PAL、CHS1 和 MybA1 的相对表达式与总花色

苷质量分数的相关系数较高。水分胁迫能提高一些基因与总花色苷质量分数的相关性。其中,T2 处理下 *CHS1* 的相对表达量与花色苷合成呈显著正相关,相关系数为 0.897,T3 组 *PAL* 和 *MybA1* 的相对表达量与花色苷合成呈显著正相关,相关系数分别为 0.900 和 0.904。

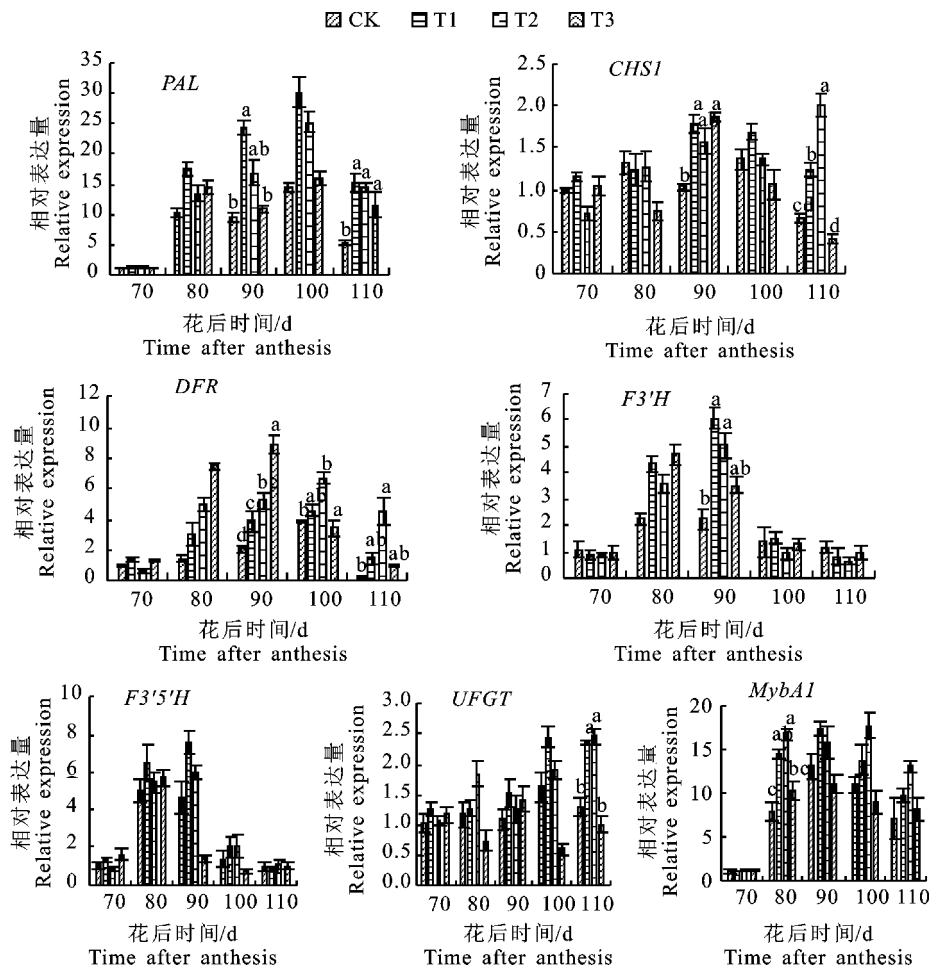


图 3 水分胁迫下葡萄果实花色苷合成途径相关基因表达量

Fig. 3 Gene expression of anthocyanin biosynthesis pathway in grape berries in water stress

表 4 总花色苷质量分数与花色苷生物合成相关基因相对表达量的相关性分析

Table 4 Correlation between total anthocyanin mass fraction and relative expression of anthocyanin biosynthesis related genes

处理 Treatment	<i>PAL</i>	<i>CHS1</i>	<i>DFR</i>	<i>UFGT</i>	<i>MybA1</i>
CK	0.692	−0.042	0.309	0.643	0.818
T1	0.758	0.553	0.405	0.812	0.648
T2	0.853	0.897 *	0.861	0.635	0.811
T3	0.900 *	−0.038	0.355	−0.297	0.904 *

注: * 表示 $P\leq 0.05$ 水平相关。
Note: * is related to the level of $P\leq 0.05$.

3 讨论与结论

本研究表明,不同程度水分胁迫对葡萄果实组分影响不同,轻度和中度胁迫均降低果实百粒质量和 TA 质量浓度,提高 TSS、总酚、单宁和总

花色苷质量分数,而重度胁迫反之。在果实转色后,花色苷生物合成相关基因的表达量均呈先上升后下降的趋势。不同程度水分胁迫处理对相关基因表达量的影响也不同。轻度和中度胁迫上调了 *PAL*、*CHS1*、*DFR*、*F3'H*、*F3'5'H*、*UFGT*

和 *MybA1* 基因的表达量,重度胁迫降低了果实成熟后期 *CHS1*、*F3'H*、*F3'5'H* 和 *UFGT* 表达量。相关性分析表明,中度胁迫 *CHS1* 表达量与总花色苷质量分数呈显著正相关,重度胁迫 *PAL* 和 *MybA1* 基因表达量与总花色苷质量分数呈显著正相关。

国内外大量研究表明,在不同物候期进行水分胁迫能改善葡萄果实的品质^[20]。在葡萄转色期进行调亏灌溉会降低浆果的体积、质量以及酸度,且显著提高了可溶性固形物质量分数和果实酚类物质浓度^[21]。本研究中,轻度和中度胁迫降低了浆果百粒质量、可滴定酸质量浓度,提高了可溶性固形物、单宁和总酚质量分数,与前人研究结果相一致。李云飞等^[22]发现重度干旱会降低紫叶矮樱叶片可溶性糖和花青素质量浓度。本研究中重度胁迫降低了果实可溶性固形物、单宁和总酚质量分数,与其研究结果相似,这可能是由于重度胁迫抑制了植株的生长发育及代谢。Ollé 等^[23]发现无论在转色前还是在转色后对葡萄植株进行水分胁迫,都会增加果实花色苷的质量分数,但花色苷组分有所不同。本研究中,转色前轻度和中度胁迫处理均增加了总花色苷积累量,这与前人研究结果一致。但是,重度胁迫却降低了总花色苷质量分数,这可能是由于花色苷的积累与葡萄果实糖的积累有关^[24],而重度胁迫会降低葡萄果实糖的积累,导致花色苷质量分数降低。

周莉等^[25]研究表明,从转色期开始,葡萄果实花色苷生物合成转录水平上调,在果实完熟后,转录水平下调。本研究中,葡萄果实转色至成熟,与花色苷生物合成相关基因的表达量均呈现先上升后下降的趋势,与其研究结果一致。水分胁迫会改变花色苷生物合成过程相关基因的转录水平,并上调葡萄花色苷合成途径 *F3H*、*DFR*、*UFGT*、*F3'H*、*F3'5'H* 和 *GST* 基因的表达^[26]。本研究中,轻度和中度胁迫使 *PAL*、*CHS1*、*DFR*、*F3'H*、*F3'5'H*、*UFGT* 和 *MybA1* 基因的表达上调,与前人研究结果一致。而重度胁迫降低了果实成熟后期 *CHS1*、*F3'H*、*F3'5'H* 和 *UFGT* 表达量。因此,重度胁迫导致总花色苷质量分数降低,可能是由于 *UFGT* 是催化不稳定的花色素糖基化形成稳定的花色苷-3-葡萄糖苷的关键结构基因^[27],且重度胁迫显著降低了果实糖质量浓度。花色苷生物合成中相关基因表达量与总花色苷质量分数的变化具有相关性^[28-29]。本试

验表明,中度胁迫 *CHS1* 表达量与总花色苷质量分数呈显著正相关,重度胁迫 *PAL* 和 *MybA1* 基因表达量与总花色苷质量分数也呈显著正相关,这也验证了前人的结果,并且水分胁迫提高一些基因表达量与花色苷总量的相关性。

水分胁迫通过控制葡萄植株的生长发育改善葡萄浆果的成熟度,调节葡萄花色苷生物合成过程中相关基因的表达从而提高了葡萄果实总花色苷质量分数,同时也提高了水分利用效率^[30-31]。本研究表明,轻度和中度胁迫有利于葡萄浆果品质的改善,促进了葡萄果实花色苷的生物合成,与对照相比分别节约灌水 38.2%和 69.1%,建议在生产中减少灌水,以达到合理的水分胁迫之目的,为生产优质葡萄酒提供优质原料。

参考文献 Reference:

- [1] JENS F, FRANK K, GERHARD R, *et al.* Stability and bio-transformation of various dietary anthocyanins in vitro[J]. *European Journal of Nutrition*, 2006, 45(1): 7-18.
- [2] CASTELLARIN S D, GASPERO G D, MARCONI R, *et al.* Colour variation in red grapevines (*Vitis vinifera* L.): genomic organisation, expression of flavonoid 3'-hydroxylase, flavonoid 3', 5'-hydroxylase genes and related metabolite profiling of red cyanidin-/blue delphinidin-based anthocyanins in berry skin[J]. *BMC Genomics*, 2006, 7(1): 12.
- [3] JEONG S T, GOTO-YAMAMOTO N, HASHIZUME K, *et al.* Expression of the flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3', 5'-hydroxylase genes and flavonoid composition in grape (*Vitis vinifera*) [J]. *Plant Science*, 2006, 170(1): 61-69.
- [4] FRITZ J, KERN M, PAHLKE G, *et al.* Biological activities of malvidin, a red wine anthocyanidin[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2010, 50(4/5): 390-395.
- [5] SHIN W, PARK S, KIM E. Protective effect of anthocyanins in middle cerebral artery occlusion and reperfusion model of cerebral ischemia in rats[J]. *Life Sciences*, 2006, 79(2): 130-137.
- [6] AZUMA A K S, GOTO-YAMAMOTO N, SHIRAISHI M, *et al.* Color recovery in berries of grape (*Vitis vinifera* L.) 'Benitaka', a bud sport of 'Italia', is caused by a novel allele at the VvmybA1 locus [J]. *Plant Science*, 2009, 176(4): 470-478.
- [7] AGEORGES A, FERNANDEZ L, MERDINOGLU D, *et al.* Four specific isogenes of the anthocyanin metabolic pathway are systematically co-expressed with the red colour of grape berries[J]. *Plant Science*, 2006, 170(2): 372-383.
- [8] AZUMA A, YAKUSHIJI H, KOSHITA Y, *et al.* Flavonoid biosynthesis-related genes in grape skin are differentially regulated by temperature and light conditions[J]. *Planta*, 2012, 236(4): 1067-1080.
- [9] PASTORE C, ZENONI S, FASOLI M, *et al.* Selective defoliation affects plant growth, fruit transcriptional ripening

- program and flavonoid metabolism in grapevine[J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13(1): 30.
- [10] 沈露露, 胡春梅, 许玉超, 等. 水分胁迫对紫色不结球白菜花色苷合成及相关基因表达的影响[J]. *西北农业学报*, 2016, 25(4): 588-594.
- SHEN L L, HU CH M, XU Y CH, *et al.* Anthocyanins biosynthesis and gene expression changes of non-heading chinese cabbage under water stress[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2016, 25(4): 588-594.
- [11] KENNEDY J A, MATTHEWS M A, WATERHOUSE A L. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids[J]. *American Journal of Enology & Viticulture*, 2002, 53(53): 268-274.
- [12] SANTESTEBAN L G, MIRANDA C, ROYO J B. Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. ‘Tempranillo’ [J]. *Agricultural Water Management*, 2011, 98(7): 1171-1179.
- [13] 房玉林, 惠竹梅, 陈洁, 等. 水分胁迫对葡萄光合特性的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2006, 24(2): 135-138.
- FANG Y L, HUI ZH M, CHEN J, *et al.* Effects of water stress on photosynthetic properties of grapevine[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2006, 24(2): 135-138.
- [14] 惠竹梅, 房玉林, 郭玉枝, 等. 水分胁迫对葡萄幼苗 4 种主要生理指标的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2007, 25(3): 146-149.
- HUI ZH M, FANG Y L, GUO Y ZH, *et al.* The effect of water stress on main physiological indexes of wine grape leaf[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2007, 25(3): 146-149.
- [15] COOMBE B G. Growth stages of the grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages[J]. *Australian Journal of Grape & Wine Research*, 2010, 1(2): 104-110.
- [16] BAHAR E, CARBONNEAU A, KORKUTAL I. The effect of extreme water stress on leaf drying limits and possibilities of recovering in three grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars[J]. *African Journal of Agricultural Research*, 2011, 6(5): 1151-1160.
- [17] 邓波, 秦洋. 赤霞珠和蛇龙珠葡萄浆果中不同组分含量的研究[J]. *山东轻工业学院学报(自然科学版)*, 2012, 26(3): 27-30.
- DENG B, QIN Y. Comparative study of the different compound content in grape berry of Cabernet Sauvignon and Cabernet Gernischt[J]. *Journal of Shandong Institute of Light Industry (Natural Science Edition)*, 2012, 26(3): 27-30.
- [18] 刘洪海, 张晓丽, 杜平, 等. pH 示差法测定烟 73 葡萄中花青素含量[J]. *中国调味品*, 2009, 34(4): 110-111.
- LIU H H, ZHANG X L, DU P, *et al.* Determination the anthocyanin content in Yan 73 grape by pH-differential method[J]. *China Condiment*, 2009, 34(4): 110-111.
- [19] TD S, KJ L. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method[J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(6): 1101.
- [20] PINASSEAU L, VALLVERDÚ-QUERALT A, VERBAERE A, *et al.* Cultivar diversity of grape skin polyphenol composition and changes in response to drought investigated by LC-MS based metabolomics[J]. *Front Plant Science*, 2017(8): 1826.
- [21] LÓPEZ M I, SNCHEZ M T, D? AZ A, *et al.* Influence of a deficit irrigation regime during ripening on berry composition in grapevines (*Vitis vinifera* L.) grown in semi-arid areas[J]. *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, 2007, 58(7): 491-507.
- [22] 李云飞, 李彦慧, 王中华, 等. 土壤干旱胁迫对紫叶矮樱叶片呈色的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(7): 3678-3684.
- LI Y F, LI Y H, WANG ZH H, *et al.* Effect of soil drought stress on leaf coloration-emerging of *Prunus cistena* cv. *pissardii* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(7): 3678-3684.
- [23] OLLÉ D, GUIRAUD J L, SOUQUET J M, *et al.* Effect of pre- and post-veraison water deficit on proanthocyanidin and anthocyanin accumulation during Shiraz berry development[J]. *Australian Journal of Grape & Wine Research*, 2011, 17(1): 90-100.
- [24] 黄春辉, 俞波, 苏俊, 等. ‘美人酥’和‘云红梨 1 号’红皮砂梨果实的着色生理[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(7): 1433-1440.
- HUANG CH H, YU B, SU J, *et al.* A study on coloration physiology of fruit in two red chinese sand pear cultivars ‘Meirensu’ and ‘Yun’ [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(7): 1433-1440.
- [25] 周莉, 王军. NAA 和 ABA 处理对‘京优’葡萄花色苷生物合成相关基因表达的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2011, 16(4): 30-37.
- ZHOU L, WANG J. Effects of NAA and ABA treatments on the expression of anthocyanin biosynthetic genes in Jing-you grape berry skin[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2011, 16(4): 30-37.
- [26] SAVOIS, WONG D C J, ARAPITSAS P, *et al.* Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1): 67.
- [27] KOBAYASHI S, ISHIMARU M, DING C K, *et al.* Comparison of UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UGT) gene sequences between white grapes (*Vitis vinifera*) and their sports with red skin[J]. *Plant Science*, 2001, 160(3): 543-550.
- [28] 王博, 何建军, 李节法, 等. 根域限制对‘巨峰’葡萄花色苷代谢途径关键基因表达的影响[J]. *果树学报*, 2015, 32(1): 19-25.
- WANG B, HE J J, LI J F, *et al.* Effect of root restriction on transcriptional expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in Kyoho grape[J]. *Journal of Fruit Science*, 2015, 32(1): 19-25.
- [29] 俞信光, 刘双双, 冯亚斌, 等. 有机基质栽培对巨峰葡萄花色苷合成基因表达的影响[J]. *核农学报*, 2016, 30(11): 2133-2143.
- YU X G, LIU SH SH, FENG Y B, *et al.* Effects of organic

- substrate cultivation on anthocyanins biosynthetic genes expression in kyoho grape berries[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30(11): 2133-2143.
- [30] ACEVEDOOPAZO C, ORTEGAFARIAS S, FUENTES S. Effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: an irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation[J]. *Agricultural Water Management*, 2010, 97(7): 956-964.
- [31] CÁ CERES-MELLA A, TALAVERANO M I, VILLALOBOS-GONZÁ LEZ L, *et al.* Controlled water deficit during ripening affects proanthocyanidin synthesis, concentration and composition in Cabernet Sauvignon grape skins[J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2017, 117: 34.

Effect of Water Stress on Anthocyanin Biosynthesis of Grape Berries

LÜ Danguì, XIE Yue, XU Weirong and WANG Zhenping

(School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract To investigate the effect of water stress on the relationship between anthocyanin biosynthesis related gene expression and total anthocyanin mass fraction in grape berries, three-year-old Cabernet Sauvignon was selected as experimental material treated with different water stress at one week before veraison. The hundred grain mass, total soluble solids, titratable acids mass concentration, total phenols and tannins mass fraction of grape berries during harvest were determined. The mass fraction of total anthocyanins and the expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in grape berries during ripening were detected by pH differential method and RT-PCR, respectively. The results showed that mild and moderate stress reduced hundred grain quality and titratable acid mass fraction, increased total soluble solid mass fraction, tannin and total phenol mass fraction. Meanwhile, mild and moderate stress also increased the total anthocyanin mass fraction during fruit ripening, reaching the maximum, 0.241% and 0.228% respectively, at 110 days after anthesis. Mild and moderate water stress increased the expression of *PAL*, *CHS1*, *DFR*, *F3'H*, *F3'5'H*, *UFGT* and *MybA1* genes in anthocyanin biosynthesis pathway. Among them, *CHS1*, *F3'H*, *F3'5'H* and *MybA1* genes expressed the highest at 90 days after anthesis; *PAL* and *DFR* genes expressed the highest at 100 days after anthesis; *UFGT* genes expressed the highest at 110 days after anthesis. While severe water stress decreased the expression of *CHS1*, *F3'H*, *F3'5'H* and *UFGT* at late ripening stage. Correlation analysis showed that there was a significant positive correlation between the total anthocyanin mass fraction in moderate water stress and the expression of *CHS1* gene. The total anthocyanin mass fraction in severe water stress also were positively correlated with the expression levels of *PAL* and *MybA1* genes. Mild and moderate water stress promoted the expression of related genes in grape anthocyanin biosynthesis, thus increasing the mass fraction of total anthocyanin in grape berries.

Key words Water stress; Grape berry; Anthocyanin; Gene

Received 2018-12-10

Returned 2019-02-22

Foundation item China Agriculture Research System(No. CARS-29-zp-03); the National Natural Science Foundation of China(No. 31660551).

First author LU Danguì, female, master student. Research area: viticulture. E-mail: 14804990@qq.com

Corresponding author WANG Zhenping, male, Ph. D, research fellow, doctoral supervisor. Research area: viticulture physiology. E-mail: dr. wangzhp@163.com

(责任编辑: 潘学燕 Responsible editor: PAN Xueyan)