

邵雪花, 赖多, 肖维强, 等. 番石榴果实品质评价及黄酮类化合物合成相关基因挖掘 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(2): 245-253.  
SHAO Xuehua, LAI Duo, XIAO Weiqiang, et al. Evaluation of guava fruit quality and mining of genes related to flavonoid synthesis[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(2): 245-253.

# 番石榴果实品质评价及黄酮类化合物合成相关基因挖掘

邵雪花✉, 赖多, 肖维强, 刘传和, 贺涵, 匡石滋✉

(广东省农业科学院 果树研究所/农业农村部亚热带果树生物学与遗传资源利用重点实验室/

广东省热带亚热带果树研究重点实验室, 广东 广州 510640)

**摘要:**【目的】综合评价番石榴 *Psidium guajava* 不同品种间的果实品质差异并挖掘黄酮类化合物合成的关键基因。【方法】对番石榴 6 个品种的 11 个果实品质指标进行测定, 并结合主成分分析方法综合评价其品质差异, 运用转录组测序技术比较各品种间的差异表达基因 (Differentially expressed gene, DEG), 通过 GO 和 KEGG 富集分析, 挖掘黄酮类化合物合成的 DEG, 利用实时荧光定量 PCR (Quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 研究 DEG 在不同品种间的特异性表达。【结果】6 种番石榴试材中‘金斗香’和‘胭脂红’品质最优, 得分较高, ‘水晶’和‘西瓜红’较低, ‘珍珠’和‘红宝石’居中; ‘金斗香’和‘胭脂红’的类黄酮质量分数较高, 分别为 9.76 和 10.05 mg/g, 是‘水晶’ (5.74 mg/g) 的 1.5 倍以上, 显著高于其他品种 ( $P>0.05$ )。转录组测序分析显示, ‘金斗香’和‘胭脂红’的 DEG 聚为一类, 其余 4 种的 DEG 聚为一类。黄酮类化合物的生物合成途径中 *CHS*、*FLS*、*CYP73A*、*CYP98A3*、*DFR*、*E2.1.1.104*、*E1.14.11.19* 和 *CYP75A* 基因在‘金斗香’和‘胭脂红’中表达量显著上调。qRT-PCR 验证结果表明, *FLS* 基因在‘胭脂红’中表达量最高, 是‘西瓜红’的 10 倍以上; *CYP73A*、*CYP75A*、*E2.1.1.104* 和 *CHS* 基因在‘金斗香’中表达量最高, ‘珍珠’中表达量最低, 其中 *CYP73A* 和 *CYP75A* 基因在‘金斗香’中的表达量是‘珍珠’的 30 倍以上; 而 *DFR* 基因在‘胭脂红’中表达量较高, ‘金斗香’中表达量较低。qRT-PCR 检测到 DEG 的表达水平与转录组测序结果一致, 证明番石榴 6 个品种的转录组测序结果可靠。【结论】本研究系统评价了 6 种番石榴果实品质差异, 并挖掘到 8 个与番石榴黄酮类化合物合成相关的关键基因, 为后期番石榴的品种选育、功能基因挖掘和黄酮类化合物的生物合成途径等研究提供科学依据。

**关键词:** 番石榴; 果实品质; 转录组; 类黄酮; 差异表达基因

中图分类号: S667.9

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)02-0245-09

## Evaluation of guava fruit quality and mining of genes related to flavonoid synthesis

SHAO Xuehua✉, LAI Duo, XIAO Weiqiang, LIU Chuanhe, HE Han, KUANG Shizi✉

(Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of South Subtropical Fruit Biology and Genetic Resource Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangdong Province Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fruit Tree Research, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** 【Objective】The purpose of this study was to comprehensively evaluate the differences in fruit quality among different guava (*Psidium guajava*) cultivars and explore key genes for flavonoid synthesis. 【Method】A total of 11 fruit quality indexes of six guava cultivars were measured and principal component

收稿日期: 2022-01-17 网络首发时间: 2022-11-07 16:51:11

首发网址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20221107.1513.002.html>

作者简介: 邵雪花, 助理研究员, 博士, 主要从事番石榴栽培育种研究, E-mail: [sxh19831017@163.com](mailto:sxh19831017@163.com); 通信作者: 匡石滋, 研究员, 主要从事果树育种研究, E-mail: [kuangshizi@126.com](mailto:kuangshizi@126.com)

基金项目: 广东省乡村振兴战略专项“现代种业提升项目”(粤农计[2018]36号); 广州市科技特派员项目(20212100062)

analysis was carried out. Transcriptome sequencing technology was used to compare the differentially expressed genes (DEGs) among the cultivars, and GO and KEGG enrichment analyses were carried out to mine the DEGs of flavonoid synthesis. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to study the specific expression of differential genes in different cultivars. 【Result】 Among the six guava cultivars, ‘Jindouxiang’ and ‘Yanzhihong’ scored higher, ‘Shuijing’ and ‘Xiguahong’ scored lower, and ‘Zhenzhu’ and ‘Hongbaoshi’ scored in the middle. The flavonoid contents of ‘Jindouxiang’ and ‘Yanzhihong’ were significantly higher compared to other cultivars ( $P>0.05$ ), which were 9.76 and 10.05 mg/g, respectively, more than 1.5 times that of ‘Shuijing’ (5.74 mg/g). Transcriptome sequencing analysis showed that the DEGs of ‘Jindouxiang’ and ‘Yanzhihong’ were clustered into one category, and the DEGs of the other four cultivars were clustered into one category. *CHS*, *FLS*, *CYP73A*, *CYP98A3*, *DFR*, *E2.1.1.104*, *E1.14.11.19* and *CYP75A* genes in the biosynthetic pathway of flavonoids were significantly up-regulated in ‘Jindouxiang’ and ‘Yanzhihong’. qRT-PCR verification showed that the expression of *FLS* gene was the highest in ‘Yanzhihong’, which was more than 10 times of that in ‘Xiguahong’. The expression levels of *CYP73A*, *CYP75A*, *E2.1.1.104* and *CHS* genes were the highest in ‘Jindouxiang’ and the lowest in ‘Zhenzhu’. Among them, the expression levels of *CYP73A* and *CYP75A* genes in ‘Jindouxiang’ were more than 30 times of those in ‘Zhenzhu’, while the expression level of *DFR* gene was higher in ‘Yanzhihong’ and lower in ‘Jindouxiang’. The expression levels of DEGs were consistent comparing the qRT-PCR and transcriptome sequencing results, indicating the transcriptome sequencing results of six guava cultivars were reliable. 【Conclusion】 The quality differences of six guava cultivars were systematically evaluated, and eight key genes related to the synthesis of guava flavonoids were discovered. This study provides a scientific basis for the research of guava cultivar breeding, functional gene mining and biosynthetic pathway of flavonoids.

**Key words:** *Psidium guajava*; Fruit quality; Transcriptome; Flavonoid; Differentially expressed gene

番石榴 *Psidium guajava* 又名芭乐、鸡屎果, 是桃金娘科 *Myrtaceae* 番石榴属 *Psidium* 的常绿灌木或小乔木, 原产美洲热带地区, 现已在广东、广西、福建、海南等地广泛种植<sup>[1-3]</sup>。番石榴果实营养丰富, 清香可口, 富含多种人体所必需的营养成分及抗氧化物质, 具有很高的食用和药用价值<sup>[4-5]</sup>, 现已成为岭南地区果农增收的主要经济作物之一。

番石榴果实品质是决定其商品价值及能否推广的重要依据。进行果实品质的科学评价, 对优化番石榴品种结构、筛选优良种质及创制新品种等具有重要意义。目前在番石榴果实品质评价研究中, 大多数是基于对番石榴单一品种不同成熟期的品质评价或采后营养物质和生物活性功能研究<sup>[6-8]</sup>, 而基于主成分分析方法探讨番石榴不同品种间的果实品质差异却鲜见报道。主成分分析法是剔除多个变量中相互重叠的信息, 即通过降维的思想将多个信息转化为几个不相关的综合变量的多元统计方法<sup>[9]</sup>, 适用于综合评价候选个体。这种方法既能把握待评类型的综合性状表现, 又能简化评价程序, 已被广泛应用于果蔬品质指标筛选和品质综合评

价研究<sup>[10-13]</sup>。

转录组学是从 RNA 水平研究物种的基因表达, 目前已成为挖掘植物功能基因、探索其有效成分的生物合成途径与调控机制、阐明基因功能的重要手段, 不论是否存在参考基因组, 均能获得转录本、差异基因表达、转录发生位点、次生代谢产物途径等信息, 为理解物种的生物学及生物化学等信息提供技术手段<sup>[14]</sup>。鉴于此, 本研究选用 6 个品种的番石榴果实为研究对象, 对果实品质的 11 个指标进行测定, 并结合主成分分析方法综合评价其品质优劣。同时进行 RNA-seq 分析, 结合生物信息学方法对转录组数据的功能基因进行注释分类, 并分析代谢通路, 深入挖掘黄酮类化合物合成相关的功能基因, 为番石榴品种选育、种植结构优化升级及分子育种提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及试剂

6 个品种 ‘红宝石’、‘西瓜红’、‘胭脂红’、‘珍珠’、‘水晶’和 ‘金斗香’ 的番石榴

果实于 2021 年 6 月统一采收于广东省中山市坦洲镇, 挑取大小一致、色泽和形状相近、九分成熟度且无病虫害的番石榴果实。

试剂盒均购自苏州科铭生物技术有限公司, 常规试剂氢氧化钠、酚酞、碳酸氢钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠等均为国产分析纯, 购买于赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 果实品质测定 将 6 种番石榴果实, 每种设 3 个生物学重复, 每个重复 10 个果实, 送往广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所, 进行可溶性固形物、总酸、总糖、还原糖和蔗糖含量等果实品质测定。

1.2.2 总酚与类黄酮含量测定 分别按照植物总酚和植物类黄酮试剂盒说明书进行操作, 计算公式如下:

总酚含量 =  $0.890 \times (D_{760\text{ nm}} - 0.001\ 2) \div m_{\text{干}}$ , (1)

类黄酮含量 =  $0.797 \times (D_{760\text{ nm}} - 0.000\ 7) \div m_{\text{干}}$ , (2)

式中,  $m_{\text{干}}$  为样品干质量。

1.2.3 总抗氧化能力测定 根据总抗氧化能力(DPPH 法和 ABTS 法)试剂盒说明书操作规程, 总抗氧化能力计算公式如下:

DPPH清除能力 =  $1.414 \times (D_{515\text{ nm}} + 0.008\ 1) \div m_{\text{鲜}}$ , (3)

ABTS清除能力 =  $1.424 \times (D_{515\text{ nm}} + 0.001\ 2) \div m_{\text{鲜}}$ , (4)

式中,  $m_{\text{鲜}}$  为样品鲜质量, 以标准曲线上获得的抗氧化剂 Trolox 的物质的量来表示样本的 DPPH 自由基清除能力和 ABTS 自由基清除能力。

1.2.4 还原型抗坏血酸与单宁含量测定 分别根据还原型抗坏血酸(Ascorbic acid, AsA)和单宁含量测定试剂盒说明书进行操作, 计算公式如下:

AsA含量 =  $227.270 \times (D_{350\text{ nm}} + 0.018) \div m_{\text{鲜}}$ , (5)

单宁含量 =  $1.218 \times (D_{275\text{ nm}} - 0.013\ 4) \div m_{\text{鲜}}$ 。 (6)

1.2.5 RNA-seq 分析 利用植物总 RNA 提取试剂盒抽提 6 个品种番石榴果实的总 RNA, 送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行高通量测序。将纯化后的总 RNA 检测其完整性后进行浓度测定, 用合格的 RNA 样品构建文库。质检合格后进行 Illumina 测序, 将预处理的数据进行过滤获得 Clean reads, 结合番石榴基因组, 采用 Trinity 将 Clean reads 进行拼接、组装, 获得参考基因用于后续的定量差异分析。

通过 FPKM 标准化对番石榴样本的基因表达量进行分析, 然后利用 edgeR 软件进行差异基因的表达分析。将获得的原始 reads 进行标准化校正, 随后通过统计学分析模型计算假设检验概率( $P$ ), 最后进行多重假设检验校正, 得到 FDR, 基于  $FDR \leq 0.01$  和  $|\log_2 FC| \geq 2$  ( $FC$  为上下调倍数)筛选差异基因, 建立差异表达基因(Differentially expressed gene, DEG)集, 随后将 DEG 通过 GOseq 和 KOBAS 软件分别进行 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析。

1.2.6 荧光定量 PCR(qPT-PCR) 分析 根据天根生化科技有限公司的多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 RNAprep Pure 的说明书进行总 RNA 抽提。参照 FastKing Gdna Dispelling RT SuperMix 反转录试剂盒(TaKaRa)说明书的操作步骤进行反转录, 以 GAPDH 作为内参基因, FLS、CYP73A、CYP75A 和 CHS 基因的特异性引物均利用 NCBI 网站设计, 委托上海生工生物工程股份有限公司进行引物合成, 序列见表 1。利用 TaKaRa 公司的 TB Green® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)试剂盒和 Applied Biosystems 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增, 通过  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算出不同番石榴品种的基因表达量。

表 1 差异表达基因的 qRT-PCR 引物序列  
Table 1 Primer sequences of differentially expressed genes for qRT-PCR

| 基因名称<br>Gene name | 上游引物序列(5'→3')<br>Forward primer sequence | 下游引物序列(5'→3')<br>Reverse primer sequence |
|-------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| FLS               | ATGGAGGTGGAGAGAGTTCAAGC                  | CTAGCATATTCTTGTTGGCCT                    |
| CYP73A            | CAATTGAGACAACACTATGGTCGAT                | TTCTTCAGGGTTTTTCCAGTGG                   |
| CYP75A            | TATGGTGTTTGCTCATTACGGATC                 | AGCAACATGCTCCTCAATCATG                   |
| CHS               | GTCCCTAAGCTAGGCAAAGAAGC                  | CGAAGATGGGTTTCTCTCCGA                    |
| DFR               | CTGACTCTCTGGAAGGCCGA                     | GGATTGCGAGAGATCGTCGG                     |
| E2.1.1.104        | ATGGAAGAGAAAATGAAAGCAGCA                 | TTTCCATCATCAGGAATTGCTAGG                 |
| GAPDH             | TTGCTGGACGCGTCGCAC                       | GGAGCAGCGGAAGTCGACG                      |

1.3 数据分析

试验数据使用 SPSS 22.0 软件进行单因素 ANOVA 和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 番石榴果实品质分析

将 6 个品种番石榴果实的营养成分测定结果进行方差分析及 LSD 多重比较 (表 2), 由表中数据可见, 不同品种间变异系数较大。可溶性固形物含量由高到低依次为: ‘珍珠’ > ‘红宝石’ > ‘水晶’ > ‘西瓜红’ > ‘胭脂红’ > ‘金斗香’, 平均值为 8.74%; 总糖含量的平均值为 65.06 mg/g, 变化趋势类似可溶性固形物; 蔗糖含量的平均值为 18.26 mg/g, 含量最高的 ‘红宝石’ 可达 30.91 mg/g, 是含量最低的 ‘西瓜红’ (13.38 mg/g) 的 2.31 倍; 总酸含量最高的为 ‘金斗香’ 和 ‘胭脂红’, 与其他 4

组相比差异显著 ( $P<0.05$ ); 总酚含量最高的为 ‘金斗香’ (11.51 mg/g), 最低的为 ‘水晶’ (7.67 mg/g), 两者差异显著, 而 ‘红宝石’ 和 ‘珍珠’ 间差异不显著; 类黄酮含量的平均值为 7.75 mg/g, 高含量组为 ‘金斗香’ 和 ‘胭脂红’, 低含量组为 ‘水晶’ 和 ‘西瓜红’, 两组差异显著; 抗坏血酸含量最高为 ‘红宝石’, 可达 2.42 mg/g, 与其他品种相比差异显著, 最低的为 ‘水晶’, 仅有 1.09 mg/g; 单宁含量由高到低依次为: ‘水晶’ > ‘西瓜红’ > ‘红宝石’ > ‘金斗香’ > ‘胭脂红’ > ‘珍珠’, 平均值为 5.31 mg/g; ABTS 清除能力的平均值为 31.72  $\mu\text{mol/g}$ , ‘金斗香’ 和 ‘胭脂红’ 的 ABTS 清除能力较高, ‘西瓜红’ 和 ‘水晶’ 的 ABTS 清除能力较低; DPPH 清除能力最高的为 ‘胭脂红’ (1004.30  $\mu\text{mol/g}$ ), 最低的为 ‘西瓜红’ (333.77  $\mu\text{mol/g}$ ), 前者是后者的 3.01 倍。

表 2 番石榴果实的营养成分比较<sup>1)</sup>  
Table 2 Comparison of the nutritional components of guava fruits

| 品种<br>Cultivar                | w/%                         |                  | w/(mg·g <sup>-1</sup> ) |                          |               |                       |
|-------------------------------|-----------------------------|------------------|-------------------------|--------------------------|---------------|-----------------------|
|                               | 可溶性<br>固形物<br>Soluble solid | 总酸<br>Total acid | 总糖<br>Total<br>sugar    | 还原糖<br>Reducing<br>sugar | 蔗糖<br>Sucrose | 总酚<br>Total<br>phenol |
| 红宝石 Hongbaoshi                | 9.40±1.05c                  | 0.14±0.02ab      | 69.09±7.52c             | 38.31±1.18a              | 30.91±1.54d   | 8.61±0.26b            |
| 西瓜红 Xiguahong                 | 8.60±0.92b                  | 0.18±0.04b       | 60.70±7.08ab            | 45.15±4.36b              | 13.38±0.44a   | 7.83±0.80a            |
| 胭脂红 Yanzhihong                | 8.23±0.31b                  | 0.27±0.02d       | 65.84±5.12b             | 40.50±2.21ab             | 21.06±1.69c   | 11.25±0.70c           |
| 珍珠 Zhenzhu                    | 9.87±0.80c                  | 0.11±0.02a       | 70.25±2.38c             | 52.93±1.51c              | 17.48±0.85b   | 8.48±1.03b            |
| 水晶 Shuijing                   | 8.99±0.79bc                 | 0.23±0.02c       | 65.55±2.59b             | 42.41±2.15b              | 22.74±1.05c   | 7.67±1.11a            |
| 金斗香 Jindouxiang               | 7.34±0.66a                  | 0.29±0.02d       | 58.91±2.79a             | 39.40±1.83a              | 16.97±0.40b   | 11.51±0.54c           |
| 平均值 Mean                      | 8.74±1.84                   | 0.20±0.01        | 65.06±7.35              | 43.12±8.01               | 18.26±5.89    | 9.23±3.44             |
| 变异系数<br>Variation coefficient | 0.25                        | 0.05             | 0.12                    | 0.18                     | 0.28          | 0.37                  |

| 品种<br>Cultivar                | w/(mg·g <sup>-1</sup> ) |                       |              | w/( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |                |
|-------------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------|-----------------------------------------|----------------|
|                               | 类黄酮<br>Flavonoids       | 抗坏血酸<br>Ascorbic acid | 单宁<br>Tannin | ABTS                                    | DPPH           |
| 红宝石 Hongbaoshi                | 7.73±0.20c              | 2.42±0.17c            | 5.22±0.02b   | 33.70±1.14bc                            | 545.40±32.48b  |
| 西瓜红 Xiguahong                 | 6.54±0.18b              | 1.40±0.10ab           | 6.17±0.40c   | 23.98±0.71a                             | 337.77±32.50a  |
| 胭脂红 Yanzhihong                | 10.05±1.90d             | 1.53±0.15b            | 4.70±0.35b   | 36.79±1.60cd                            | 1004.30±95.67e |
| 珍珠 Zhenzhu                    | 6.68±0.36b              | 1.27±0.31ab           | 3.80±0.96a   | 32.17±1.27b                             | 726.83±47.06c  |
| 水晶 Shuijing                   | 5.74±0.49a              | 1.09±0.02a            | 7.22±0.28d   | 25.02±3.15a                             | 639.83±34.40c  |
| 金斗香 Jindouxiang               | 9.76±1.78d              | 1.54±0.14b            | 4.72±0.32b   | 38.65±1.81d                             | 875.90±40.25d  |
| 平均值 Mean                      | 7.75±4.01               | 1.54±0.46             | 5.31±1.21    | 31.72±5.87                              | 688.34±227.40  |
| 变异系数<br>Variation coefficient | 0.46                    | 0.30                  | 0.23         | 0.19                                    | 0.33           |

1) 同列数据后的不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ , LSD法)  
1) Different lowercase letters in the same column indicate significant differences( $P < 0.05$ , LSD method)



2.2 番石榴品质指标的主成分分析及综合评价

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行主成分分析, 结果见表 3。前 3 个主成分的累计方差贡献率达 84.533%, 可代表 11 个番石榴指标的绝大部分信息, 能够作为番石榴选优、评价的综合指标。为更好地评价各参数与成分因子之间的关系, 旋转处理所提取的主成分因子, 使单个变量在较少的几个因子上具有较高的载荷, 其载荷值的大小反映各变量在主成分中的重要程度<sup>[15]</sup>(表 4)。主成分 1 的主要正相关因素有可溶性固形物、总酸、总糖、蔗糖、还原糖、单宁、类黄酮和总酚含量, ABTS 和 DPPH 清除能力。这些指标中, 蔗糖含量的正向载荷最大; 其次载荷较大的是 DPPH 清除能力、总酚及还原糖含量。主成分 1 主要展现的是番石榴的营养和口感, 该评价结果与通常果实品质的评价结果一致; 类黄酮含量和 ABTS 清除能力作为主成分 2 的代表指标; 单宁含量作为主成分 3 的代表指标。

上述 3 个主成分能综合反映 6 个番石榴品种的果实品质指标。将主要品质指标原始数据标准化后, 计算 3 个主成分的得分, 以所选主成分对应的特征值占 3 个特征值总和的比例为权重, 计算出不同番石榴品种的综合评价得分值 ( $Y$ ), 各得分值与相应特征值的方差贡献百分率的乘积累加得出不同番石榴品种的综合评价指数 ( $S = 0.411\ 94\ Y_1 + 0.259\ 50\ Y_2 + 0.173\ 89\ Y_3$ ), 以此来评价不同番石榴品种的果实品质。由表 5 可知, 6 个番石榴品种中, 综合品质排名依次为‘金斗香’、‘胭脂红’、‘红宝石’、‘珍珠’、‘西瓜红’和‘水晶’。

表 3 主成分的特征值、方差贡献率和累计方差贡献率  
Table 3 Eigenvalue, variance contribution rate and cumulative variance contribution rate of principal components

| 成分<br>Component | 特征值<br>Eigenvalue | 方差贡献率/%<br>Variance<br>contribution rate | 累计方差贡献率/%<br>Cumulative variance<br>contribution rate |
|-----------------|-------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1               | 4.531             | 41.194                                   | 41.194                                                |
| 2               | 2.854             | 25.950                                   | 67.144                                                |
| 3               | 1.913             | 17.389                                   | 84.533                                                |
| 4               | 0.883             | 8.026                                    | 92.560                                                |
| 5               | 0.358             | 3.259                                    | 95.819                                                |
| 6               | 0.155             | 1.413                                    | 97.232                                                |
| 7               | 0.121             | 1.104                                    | 98.336                                                |
| 8               | 0.076             | 0.693                                    | 99.029                                                |
| 9               | 0.048             | 0.437                                    | 99.466                                                |
| 10              | 0.045             | 0.412                                    | 99.878                                                |
| 11              | 0.013             | 0.122                                    | 100.000                                               |

表 4 番石榴果实主要质地参数相关矩阵的规格化特征向量  
Table 4 Normalized eigenvectors of correlation matrix of main textural parameters in guava fruits

| 品质指标<br>Quality index              | 主成分 Principal component |        |        |
|------------------------------------|-------------------------|--------|--------|
|                                    | 1                       | 2      | 3      |
| 可溶性固形物含量<br>Soluble solid content  | 0.736                   | -0.290 | -0.509 |
| 总酸含量<br>Total acid content         | 0.520                   | 0.654  | 0.464  |
| 总糖含量<br>Total sugar content        | 0.417                   | -0.477 | -0.598 |
| 蔗糖含量<br>Sucrose content            | 0.913                   | -0.055 | 0.347  |
| 还原糖含量<br>Reducing sugar content    | 0.820                   | 0.409  | -0.195 |
| 类黄酮含量<br>Flavonoids content        | 0.206                   | 0.932  | 0.136  |
| 抗坏血酸含量<br>Ascorbic acid content    | -0.685                  | 0.382  | 0.004  |
| 总酚含量<br>Total phenol content       | 0.853                   | -0.152 | 0.167  |
| ABTS清除能力<br>ABTS removing capacity | 0.066                   | 0.833  | -0.427 |
| DPPH清除能力<br>DPPH removing capacity | 0.873                   | 0.019  | -0.077 |
| 单宁含量<br>Tannin content             | 0.184                   | -0.463 | 0.830  |

表 5 不同番石榴品种的主成分得分与综合评价指数  
Table 5 Scores of principal components and synthetic analysis indexes for different guava cultivars

| 品种<br>Cultivar     | 主成分得分 Score of<br>principal component |        |        | 综合评价指数<br>Synthetic<br>analysis index |
|--------------------|---------------------------------------|--------|--------|---------------------------------------|
|                    | Y1                                    | Y2     | Y3     |                                       |
| 红宝石<br>Hongbaoshi  | 1.424                                 | -1.133 | 0.943  | 0.450                                 |
| 西瓜红<br>Xiguahong   | 0.110                                 | -0.829 | -1.939 | -0.500                                |
| 胭脂红<br>Yanzhihong  | 0.369                                 | 1.230  | 0.078  | 0.484                                 |
| 珍珠<br>Zhenzhu      | -1.079                                | -0.671 | 0.852  | -0.472                                |
| 水晶<br>Shuijing     | -1.397                                | 0.140  | 0.135  | -0.513                                |
| 金斗香<br>Jindouxiang | 0.572                                 | 1.262  | -0.068 | 0.551                                 |

2.3 黄酮类物质生物合成相关基因挖掘

将 6 个品种番石榴转录组数据进行功能注释后筛选出 DEG。基于 GO 和 KEGG 数据库,对 DEG 可能参与的生物过程和信号通路进行富集分析,结果见表 6 和表 7。根据 KEGG 分类,DEG 主要注释到了苯丙烷的生物合成途径、淀粉和蔗糖的

代谢途径以及植物激素信号转导;DEG 的 GO 分析结果显示,3 450 个 DEG,被分配到生物学过程的有 321 个,占总数的 9.30%;被分配到细胞学组分的有 74 个,占总数的 2.14%;被分配到分子功能的有 3 055 个,占总数的 88.55%(表 7)。

表 6 番石榴果实差异表达基因 (DEG) 的 KEGG 信号通路富集分析  
Table 6 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes (DEGs) in guava fruit

| 类别<br>Term                                                                     | DEG个数<br>DEG number | 基因总数<br>Total gene number | P     |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------|-------|
| 苯丙烷的生物合成 Phenylpropanoid biosynthesis                                          | 42                  | 111                       | 0.000 |
| 角质、亚硫酸和蜡的生物合成<br>Cutin, suberine and wax biosynthesis                          | 11                  | 18                        | 0.004 |
| 淀粉和蔗糖的代谢 Starch and sucrose metabolism                                         | 46                  | 158                       | 0.011 |
| 花青素生物合成 Anthocyanin biosynthesis                                               | 7                   | 12                        | 0.025 |
| 乙醛酸酯和二羧酸酯代谢<br>Glyoxylate and dicarboxylate metabolism                         | 27                  | 87                        | 0.026 |
| ABC转运蛋白 ABC transporters                                                       | 13                  | 37                        | 0.054 |
| 类黄酮生物合成 Flavonoid biosynthesis                                                 | 10                  | 26                        | 0.057 |
| 半乳糖代谢 Galactose metabolism                                                     | 20                  | 66                        | 0.059 |
| 不饱和脂肪酸的生物合成<br>Biosynthesis of unsaturated fatty acids                         | 10                  | 27                        | 0.068 |
| 脂肪酸降解 Fatty acid degradation                                                   | 14                  | 43                        | 0.071 |
| 氰基氨基酸代谢 Cyanoamino acid metabolism                                             | 14                  | 43                        | 0.071 |
| 二苯乙烯类、二芳基庚烷类和姜辣酚的生物合成<br>Stilbenoid, diarylheptanoid and gingerol biosynthesis | 6                   | 13                        | 0.075 |
| 植物激素信号转导 Plant hormone signal transduction                                     | 48                  | 197                       | 0.096 |
| 色氨酸代谢 Tryptophan metabolism                                                    | 9                   | 26                        | 0.105 |
| 柠檬烯和蒎烯的降解<br>Limonene and pinene degradation                                   | 5                   | 11                        | 0.105 |
| 油菜素内酯生物合成 Brassinosteroid biosynthesis                                         | 4                   | 8                         | 0.118 |
| $\alpha$ -亚麻酸代谢 $\alpha$ -Linolenic acid metabolism                            | 11                  | 35                        | 0.118 |
| 苯丙氨酸代谢 Phenylalanine metabolism                                                | 14                  | 48                        | 0.124 |
| 脂肪酸生物合成 Fatty acid biosynthesis                                                | 12                  | 40                        | 0.131 |
| 戊糖和葡萄糖醛酸盐的相互转化<br>Pentose and glucuronate interconversions                     | 18                  | 66                        | 0.132 |

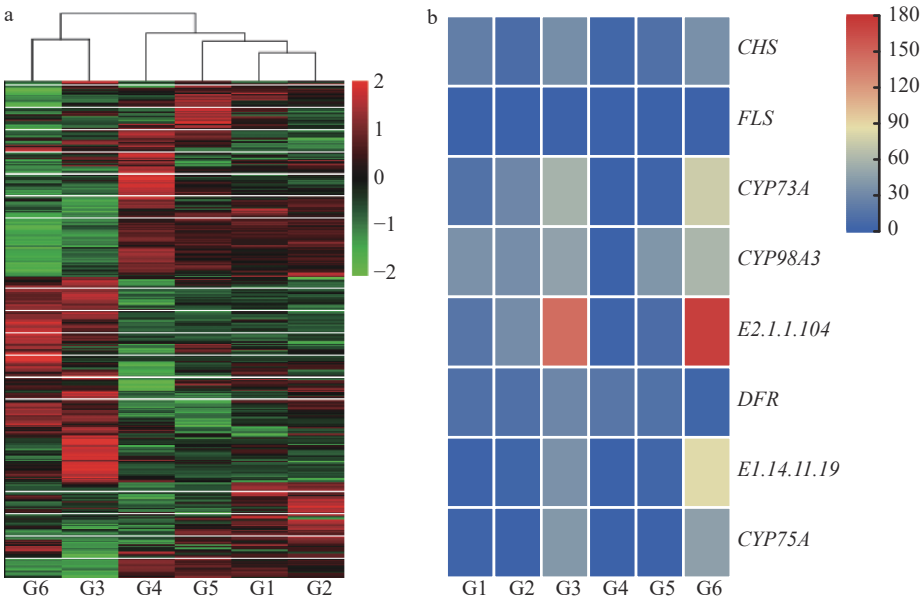
将差异基因进行聚类,根据 DEG 表达量热图(图 1a)可知,‘红宝石’和‘西瓜红’的 DEG 聚为一类,‘胭脂红’和‘金斗香’的 DEG 聚为一类。深入分析黄酮类化合物的生物合成途径,发现基因 *CHS*、*CYP73A*、*FLS*、*CYP98A3*、*DFR*、*E2.1.1.104*、*E1.14.11.19* 和 *CYP75A* 在‘胭脂红’和‘金斗香’中显著上调表达(图 1b)。通过 qRT-PCR

验证表明 *FLS* 基因在‘胭脂红’中表达量最高,‘西瓜红’中表达量最低,前者表达量是后者的 10 倍以上,*CYP73A*、*CYP75A*、*E2.1.1.104* 和 *CHS* 基因均在‘金斗香’中表达量最高,‘珍珠’中表达量最低,其中 *CYP73A* 和 *CYP75A* 基因在‘金斗香’的中的表达量是‘珍珠’的 30 倍以上,而 *DFR* 基因在‘胭脂红’中表达量较高,‘金

表 7 番石榴果实差异表达基因 (DEG) 的 GO 生物功能分析

Table 7 GO biofunctional analysis of differentially expressed genes (DEG) in guava fruit

| 类型<br>Type                  | GO 名称<br>GO name                                                                                                                  | DEG个数<br>DEG number | 校正P<br>Corrected P |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|
| 生物学过程<br>Biological process | 多细胞生物过程 Multi-cellular organism process                                                                                           | 34                  | 0.000 8            |
|                             | 授粉 Pollination                                                                                                                    | 30                  | 0.001 6            |
|                             | 花粉-雌蕊相互作用 Pollen-pistil interaction                                                                                               | 30                  | 0.001 6            |
|                             | 花粉识别 Recognition of pollen                                                                                                        | 30                  | 0.001 6            |
|                             | 防御反应 Defense response                                                                                                             | 100                 | 0.001 9            |
|                             | 细胞识别 Cell recognition                                                                                                             | 30                  | 0.001 9            |
| 细胞学组分<br>Cellular component | 生物刺激反应 Response to biotic stimulus                                                                                                | 67                  | 0.001 9            |
|                             | 细胞外基质 Extracellular matrix                                                                                                        | 39                  | 0.002 9            |
| 分子功能<br>Molecular function  | 蛋白质的细胞外基质 Proteinaceous extracellular matrix                                                                                      | 35                  | 0.018 4            |
|                             | 血红素的结合 Heme binding                                                                                                               | 92                  | 0.000 3            |
|                             | 四吡咯的结合 Tetrapyrrole binding                                                                                                       | 93                  | 0.000 8            |
|                             | 催化活性 Catalytic activity                                                                                                           | 2073                | 0.000 8            |
|                             | 氧化还原酶活性、作用于配对供体、合并或还原分子氧<br>Oxidoreductase activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen | 87                  | 0.003 7            |
|                             | 水解酶活性、水解邻糖基化合物<br>Hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds                                                            | 130                 | 0.003 7            |
|                             | 作用于糖基键的水解酶活性 Hydrolase activity, acting on glycosyl bonds                                                                         | 139                 | 0.004 7            |
|                             | 碳水化合物结合 Carbohydrate binding                                                                                                      | 53                  | 0.027 8            |
|                             | 核酸结合转录因子活性 Nucleic acid binding transcription factor activity                                                                     | 194                 | 0.033 5            |
|                             | 转录因子活性、序列特异性DNA结合<br>Transcription factor activity, sequence-specific DNA binding                                                 | 194                 | 0.033 5            |



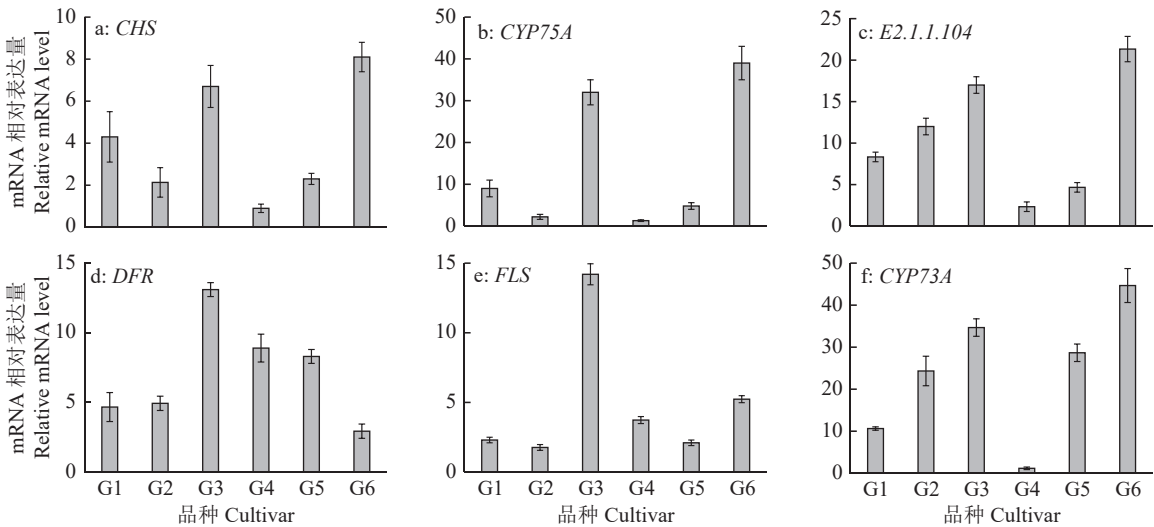
a: 差异基因表达量热图; b: 类黄酮合成信号通路中的 DEG; G1: 红宝石, G2: 西瓜红, G3: 胭脂红, G4: 珍珠, G5: 水晶, G6: 金斗香

a: Heat map of differential gene expression; b: The DEGs in flavonoid synthesis signaling pathway; G1: Hongbaoshi, G2: Xiguaohong, G3: Yanzhihong, G4: Zhenzhu, G5: Shuijing, G6: Jindouxiang

图 1 6 个品种番石榴果实差异基因 (DEG) 的表达情况

Fig. 1 The expressions of differential genes (DEGs) in fruits of six guava cultivars

斗香’中表达量较低(图 2)。这一结果不仅证实了转录组数据的可靠性,同时更好地解释了表 2 中‘胭脂红’和‘金斗香’2 组的类黄酮含量显著高于其他各组的原因。



G1: 红宝石; G2: 西瓜红; G3: 胭脂红; G4: 珍珠; G5: 水晶; G6: 金斗香  
G1: Hongbaoshi; G2: Xiguaohong; G3: Yanzhihong; G4: Zhenzhu; G5: Shuijing; G6: Jindouxiang

图 2 差异表达基因的 qRT-PCR 分析

Fig. 2 The qRT-PCR analysis of differentially expressed genes

3 讨论与结论

番石榴作为岭南地区的特色水果之一,其全身皆宝。番石榴叶被加入到民间药物中用来降血糖和降血压<sup>[16]</sup>,番石榴果实具有治疗腹泻、痔疮,抑菌,抗氧化及抗肿瘤等多种活性<sup>[17-18]</sup>。番石榴品种众多且栽培历史悠久,在不同栽培环境下生长状态不同,外观色泽、风味也存在差异<sup>[19]</sup>,品质良莠不齐。对番石榴果实进行综合评价,是有效利用和选择优异种质资源并推广栽培的基础和前提。本文选取了华南地区最常见的 6 个番石榴品种‘金斗香’、‘胭脂红’、‘水晶’、‘西瓜红’、‘珍珠’和‘红宝石’为研究对象,对其果实品质的 11 个指标进行全面分析,结合主成分分析方法,筛选得到‘金斗香’和‘胭脂红’的综合品质较佳,‘水晶’和‘西瓜红’较差,‘珍珠’和‘红宝石’居中。‘金斗香’番石榴是广东省农业科学院果树研究所在 2018 年从本地番石榴实生苗中选育出的新品种,该品种肉质细嫩软滑、香气浓郁且风味独特<sup>[20]</sup>。‘胭脂红’番石榴是广东著名的传统品种,近年来由于品种退化、管理放松、病虫害严重等原因,栽培面积和产量日渐减少。相比传统番石榴品种,大果番石榴(‘水晶’、‘西瓜红’、‘珍珠’和‘红宝石’)产量较高、早结丰产,但综合品质不及‘金斗香’和‘胭脂红’,尤其是类黄酮含量及自由基清除能力显著低于这 2 个品种。可见,‘金斗香’和‘胭脂红’可

作为研究番石榴抗氧化活性遗传特性的重要资源。

黄酮类化合物是番石榴中重要的生物活性物质,其不仅是植株重要的抗逆物质,也是其果实发挥食用和药用价值的重要原因<sup>[21-22]</sup>。近年来的研究表明,不同果树品种黄酮类化合物的含量差异较大,如文良娟等<sup>[23]</sup>研究了不同品种芒果黄酮的抗氧化活性,发现不同品种间的抗氧化活性显著不同;曾少敏等<sup>[24]</sup>在不同品种梨的多酚类物质的抗氧化活性研究中也发现不同梨品种间的抗氧化能力存在差异;以及在柑橘、荔枝研究中发现的不同品种间黄酮类化合物的差异性<sup>[25-26]</sup>。本文研究发现 6 个品种番石榴间类黄酮含量差异较大,变异系数为 0.46,变化范围在 5.74~10.05 mg/g,‘金斗香’和‘胭脂红’的类黄酮含量较高,分别为 9.76 和 10.05 mg/g,是‘水晶’(5.74 mg/g)的 1.5 倍以上。因果实总酚含量和 DPPH 清除能力与类黄酮含量存在显著正相关性<sup>[27]</sup>,故本文中测得的总酚含量和 DPPH 清除能力的变异系数也较大。

黄酮类化合物的生物合成途径目前已基本清楚,各步骤催化反应所需的酶及其基因均有大量研究<sup>[28-29]</sup>。为解析不同番石榴品种间黄酮类化合物的差异机理及挖掘其合成的关键基因,本文进一步通过转录组测序技术分析 6 个品种番石榴的差异表达基因,发现黄酮类化合物生物合成途径中的关键基因 *CHS*、*FLS*、*CYP73A*、*CYP98A3*、*DFR*、



*E2.1.1.104*、*E1.14.11.19* 和 *CYP75A* 在 ‘金斗香’ 和 ‘胭脂红’ 2 个品种中明显上调, 其中查尔酮合成酶 (*CHS*) 基因参与此生物合成途径中的多步反应, 可见这 8 个基因在番石榴黄酮类化合物的生物合成过程中起关键作用, 但具体的调控机制有待深入研究。本研究不仅为番石榴的品种选育和品种改良等提供理论基础, 还为后续开展黄酮类物质的合成和积累等相关研究奠定基础。

参考文献:

[1] 宁琳, 陈豪君, 潘祖健, 等. 我国南亚热带地区番石榴种质资源保护现状[J]. *中国南方果树*, 2015, 44(5): 147-149.

[2] OSMAN S, EL-RAHMAN A A. Effect of slow release nitrogen fertilization on growth and fruiting of Guava under mid sinai conditions[J]. *Australian Journal of Basic & Applied Sciences*, 2009, 3(4): 4366-4375.

[3] 邵雪花, 赖多, 朱华兴, 等. 不同杀菌剂对番石榴枝枯病病原菌的毒力和田间防效[J]. *植物保护*, 2019, 45(2): 199-203.

[4] LIN C Y, YIN M C. Renal protective effects of extracts from guava fruit (*Psidium guajava* L.) in diabetic mice[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2012, 67(3): 303-308.

[5] PATEL P, SUNKARA R, WALKER L T, et al. Effect of drying techniques on antioxidant capacity of guava fruit[J]. *Food and Nutrition Sciences*, 2016, 7(7): 544-554.

[6] 彭燕, 张敏, 崔小丽, 等. 珍珠番石榴果实中的营养成分与活性物质分析[J]. *食品与机械*, 2020, 36(8): 36-40.

[7] 邱珊莲, 林宝妹, 张少平, 等. 不同成熟期番石榴果实品质特征与评价[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(24): 9230-9238.

[8] GABER N B, EL-DAHY S I, SHALABY E A. Comparison of ABTS, DPPH, permanganate, and methylene blue assays for determining antioxidant potential of successive extracts from pomegranate and guava residues[J/OL]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2021. [2021-12-30] <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01386-0>.

[9] 李跃红, 冉茂乾, 徐孟怀, 等. 不同产地红心猕猴桃品质的主成分及聚类分析[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(10): 222-228.

[10] 林蝉蝉, 何舟阳, 单文龙, 等. 基于主成分与聚类分析综合评价杨凌地区红色鲜食葡萄果实品质[J]. *果树学报*, 2020, 37(4): 520-532.

[11] LAUREATI M, BERTOLI S, BERGAMASCHI V, et al. Food neophobia and liking for fruits and vegetables are not related to Italian children's overweight[J]. *Food Quality & Preference*, 2015, 40: 125-131.

[12] 郭海如, 崔雪梅, 李春生, 等. 基于主成分分析的硒、铜交互作用下油菜生理响应机制研究[J]. *西南农业学报*, 2017, 30(11): 2468-2473.

[13] LU C, FENG J, CHEN Y, et al. Tensor robust principal component analysis with a new tensor nuclear norm[J].

*IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 2020, 42(4): 925-938.

[14] 陈育青, 陈荣珠, 邹毅辉, 等. 闽草药公石松转录组分析及黄酮类合成功能基因的挖掘[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(14): 4654-4664.

[15] 池毓斌, 朱丽娟, 黄敏杰, 等. 鲜食橄榄品质综合评价模型的建立与验证[J]. *果树学报*, 2017, 34(8): 1051-1060.

[16] OJEWOLE J. Hypoglycemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract[J]. *Methods & Findings in Experimental & Clinical Pharmacology*, 2005, 27(10): 689-695.

[17] COUTIO-RODRIGUEZ R, HERNANDEZ-CRUZ P, GILES-RIOS H. Lectins in fruits having gastrointestinal activity: Their participation in the Hemagglutinating property of *Escherichia coli* O157: H7[J]. *Archives of Medical Research*, 2001, 32(4): 251-257.

[18] SHARMA R, KULKARNI G, SONAWANE M S, et al. A new endophytic species of *Arthrrium* (Apiosporaceae) from *Jatropha podagrica*[J]. *Mycoscience*, 2014, 55(2): 118-123.

[19] OLIVEIRA D, LOBATO A L, RIBEIRO S M R, et al. Carotenoids and vitamin C during handling and distribution of guava (*Psidium guajava* L.), mango (*Mangifera indica* L.), and papaya (*Carica papaya* L.) at commercial restaurants[J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2010, 58(10): 6166-6172.

[20] 匡石滋, 朱华兴, 赖多, 等. 番石榴新品种 ‘金斗香’ 的选育[J]. *果树学报*, 2018, 35(5): 646-648.

[21] FU Y, CHEN J, LI Y J, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids separated from licorice[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(2): 1063-1071.

[22] KANG J, XIE C, LI Z, et al. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. *Food Chemistry*, 2011, 128(1): 152-157.

[23] 文良娟, 刘昊, 王维. 不同品种芒果总黄酮的抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2011, 32(19): 79-82.

[24] 曾少敏, 杨健, 王龙, 等. 梨果实酚类物质含量及抗氧化能力[J]. *果树学报*, 2014, 31(1): 39-44.

[25] 钱井. 柑橘黄酮类化合物组分鉴定与抗氧化活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.

[26] 蒋依辉, 刘伟, 金峰, 等. 35 个荔枝品种抗氧化活性评价[J]. *果树学报*, 2020, 37(4): 553-564.

[27] PATHARE P, NILEGAONKAR S, AGTE V. Factors influencing the nutraceutical activity of guava fruits[J]. *Advances in Food Science and Engineering*, 2017, 1(3): 107-111.

[28] YANG Y N, YAO G F, ZHENG D, et al. Expression differences of anthocyanin biosynthesis genes reveal regulation patterns for red pear coloration[J]. *Plant Cell Reports*, 2015, 34(2): 189-198.

[29] 邹丽秋, 王彩霞, 匡雪君, 等. 黄酮类化合物合成途径及合成生物学研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(22): 4124-4128.