

桃果实冷害形成过程关键代谢途径的转录组学研究

王露凡, 杨晓涵, 王雨萱, 戴冰儿, 杜习杰, 郑小林, 宦晨*

(浙江工商大学 食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310018)

摘要: 桃子在低温贮藏过程中易产生冷害(chilling index, CI),严重影响其商品性。为探究桃果实冷害形成过程中各类代谢途径的变化规律,用转录组学技术分析了‘湖景蜜露’桃果实在低温和常温货架期贮藏过程中的转录水平变化。结果表明,在桃果实贮藏过程中共鉴定出125条代谢途径发生变化。通过对其中5条关键代谢途径的分析发现,在桃果实冷害形成过程中伴随着氧化/还原型谷胱甘肽转化途径、蔗糖合成分解途径、果胶降解途径的激活,以及淀粉合成途径、茉莉酸合成和信号转导途径的抑制。这些代谢途径的变化可能涉及桃果实受到低温胁迫的响应机制,该结果为进一步探究桃果实冷害的调控机理提供理论依据。

关键词: 桃果实; 低温胁迫; 转录组学; 代谢途径; 分子机制

中图分类号: S 37 文章编号: 1673-1689(2024)03-0066-10 DOI: 10.12441/spyswjs.20220824001

Exploring Key Metabolic Pathways in Chilling Injury Development in Peaches Based on Transcriptomic Analysis

WANG Lufan, YANG Xiaohan, WANG Yuxuan, DAI Bing'er, DU Xijie, ZHENG Xiaolin, HUAN Chen*

(College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: Peaches are susceptible to chilling injury (CI) during low-temperature storage, which severely affects their commercial quality. To investigate the variations in various metabolic pathways during the development of CI in peaches, the transcriptional level changes in ‘Hujingmilu’ peaches during low-temperature and room-temperature storage periods were analyzed based on transcriptome analysis. The results indicated that a total of 125 metabolic pathways were identified as altered during the storage of peaches. Through the analysis of five key metabolic pathways, it was observed that the development of CI in peaches accompanied by the activation of pathways involved in the conversion of oxidative or reductive glutathione, synthesis and degradation of sucrose, and degradation of pectin. Additionally, the synthesis pathway of starch and the synthesis and signaling pathway of jasmonic acid were inhibited during this process. The alterations in the above metabolic pathways might be the mechanisms in response to the cold stress in peaches. These findings could provide the theoretical guidance for subsequent investigations into the regulation mechanisms in CI development of peaches.

Keywords: peach fruit, cold stress, transcriptomic, metabolic pathways, molecular mechanism

收稿日期: 2022-08-24 修回日期: 2022-10-08

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31901744)。

*通信作者: 宦晨(1989—),男,博士,讲师,硕士研究生导师,主要从事水果贮藏与保鲜研究。E-mail: huanchen@zjgsu.edu.cn

桃果实营养价值高、口感甜美、香味怡人,深受消费者的喜爱。但是,桃果实在常温下贮藏极易软化和腐烂,贮藏期通常不足一周。低温贮藏虽然能够有效延长桃子的贮藏期^[1],但桃子是典型的冷敏型水果,不适宜的低温或长期低温贮藏,易导致桃果实发生冷害(chilling injury, CI),其典型症状是内部果肉褐变、絮败,风味缺乏。然而,桃果实冷害的形成是一个极其复杂的过程,涉及一系列代谢途径的变化,如活性氧代谢途径、细胞膜氧化途径、能量代谢途径、糖代谢、细胞壁降解及植物激素代谢等。目前,大量研究集中于果实冷害形成与各类代谢途径之间的关系,以及通过一系列处理来延缓果实冷害的形成。如 Jin 等人研究发现茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)处理增加了桃果实三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的含量及能荷水平,从而增强桃果实的抗冷性^[2]。李姚瑶等人研究发现外源 p-香豆酸可通过抑制多酚氧化酶和过氧化氢酶的活性使桃果实中总酚含量增加,进而提高清除羟自由基和超氧阴离子的能力^[3]。张籽润选用 24-表油菜素内酯(24-epibrassinolide, EBR)处理杏果实,发现 EBR 处理对杏果实 0℃贮藏时冷害的抑制作用与果糖、葡萄糖含量的增加密切相关^[4]。王静采用草酸处理减轻了哈密瓜低温贮藏过程中的冷害,发现其主要通过调控碳水化合物代谢途径来增强哈密瓜的抗冷性^[5]。近年来,研究者从分子层面精准定位冷害形成过程中的关键代谢途径或发掘新的代谢途径,这对于通过育种、采前/采后处理等手段来调控果实冷害的形成具有重要的指导作用。

转录组学是一种广谱的、精确的转录产物定量分析方法,能够更加全面探究果实采后生理变化的分子机制^[6]。随着桃基因组数据库的建立,转录组分析可以更加精准地分析桃果实冷藏过程中差异表达基因的变化趋势及功能富集途径,更深入了解桃果实冷害形成过程中分子水平的变化,筛选桃果实冷害形成过程中的关键代谢途径。作者以软溶质桃果实“湖景蜜露”为实验材料,根据冷害指数、硬度和腐烂率等指标,选择贮藏过程中 5 个时间点进行转录组测序分析,旨在筛选桃果实冷害形成过程中的关键基因和代谢途径,为后续研究桃果实冷害的调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

‘湖景蜜露’桃果实:采自上海市农业科学院种植基地,当天运回实验室散热 3 h,选取成熟度一致、大小均匀、无病害、无机械损伤的果实。

TruSeq™ RNA sample preparation Kit:美国圣迭戈 Illumina 公司;SuperScript double-stranded cDNA synthesis kit:美国英杰生命技术有限公司。

1.2 仪器与设备

STEPS 41050 果蔬硬度计:德国德普公司;A11 basic 分析研磨机:德国 IKA 公司;NovaSeq 6000 测序仪:Illumina 公司;UV5NANO 核酸微量检测仪:梅特勒托利多国际贸易有限公司;721BR12007 凝胶成像系统:伯乐公司。

1.3 实验方法

1.3.1 桃果实处理 将桃果实置于 (4±1)℃ 的低温,相对湿度 85%~90%,贮藏 4 周。每隔 7 d 选取 20 个桃果实进行取样,并在 21 d 和 28 d 分别取 20 个桃果实转移至 (25±1)℃、相对湿度 85%~90% 的环境下,模拟货架期,分别在 21+3、28+3 d 取样。在每个取样点对桃果实的冷害、硬度、腐烂率指标进行测量,同时取适量桃果肉剁碎混匀后,用液氮快速冷冻,-80℃超低温冰箱保存,用于后续转录组测定,每组实验 3 次重复。

1.3.2 CI 指数、硬度和腐烂率 ‘湖景蜜露’桃果实的 CI 症状主要表现为果肉内部褐变和絮败。按照 Jin 的方法把 CI 程度分为 5 级:0 为无褐变和絮败;1 为轻微,褐变和絮败面积比例<25%;2 为中度,褐变和絮败面积比例 25%~50%;3 为中度/重度,褐变和絮败面积比例 50%~75%;4 为重度,褐变和絮败面积>75%^[7],见式(1)。

$$I_c = \sum \frac{C_0 \times C_1}{C_2} \quad (1)$$

式中: I_c 为冷害指数; C_0 为冷害等级; C_1 为冷害果实数量,个; C_2 为每组总果实数量,个。

削果皮后,用 FHM-5 电子硬度计在桃果实赤道两侧测量果肉硬度,探头直径为 8 mm,单位用牛顿(N)表示。

腐烂率参照韩晓云等人研究方法^[8],见式(2)。

$$H = \frac{D_0}{D_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中; H 为腐烂率,%; D_0 为腐烂果实数量,个; D_1 为每组总果实数量,个。

1.3.3 RNA 提取及转录组测序 TaKaRa MiniBEST Plant RNA Extraction Kit 试剂盒提取桃果实 RNA,并通过分光光度仪和琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的纯度和完整性,将纯度高和完整性较好的 RNA 于 -80°C 冰箱保存,待用。采用带有 Oligo(dT)的磁珠与 ployA 进行 A-T 碱基配对,可以从总 RNA 中分离出 mRNA,加入裂解缓冲液将 mRNA 片段化,使其断裂成 300 bp 左右的 mRNA 小片段,再逆转录合成 cDNA,随后用 PCR 扩增分选产物,纯化得到最终的文库。最后用 QuantiFluor® dsDNA System 定量,使用 Illumina HiSeq xten/NovaSeq 6000 测序平台上机测序。

1.3.4 表达量及表达差异分析 对转录本的表达水平进行定量分析,以便后续分析不同样本间转录本的差异表达情况,并结合桃基因组数据库序列对比分析,对鉴定出的转录本进行功能注释。根据基因表达量分析获得的转录本比对到一个基因上的 reads 数目进行计算,鉴别出差异表达的基因/转录本。默认参数: $P_{\text{adjust}} < 0.05$ 和 $|\log_2 \text{FC}| \geq 1$ 。

1.3.5 差异基因 KEGG 通路富集分析 对鉴定出的差异转录本进行 KEGG 功能富集分析,采用 BH (FDR)方法进行多重检验,当 $P_{\text{adjust}} < 0.05$ 时,认为此 KEGG 功能存在显著富集。

1.4 数据分析

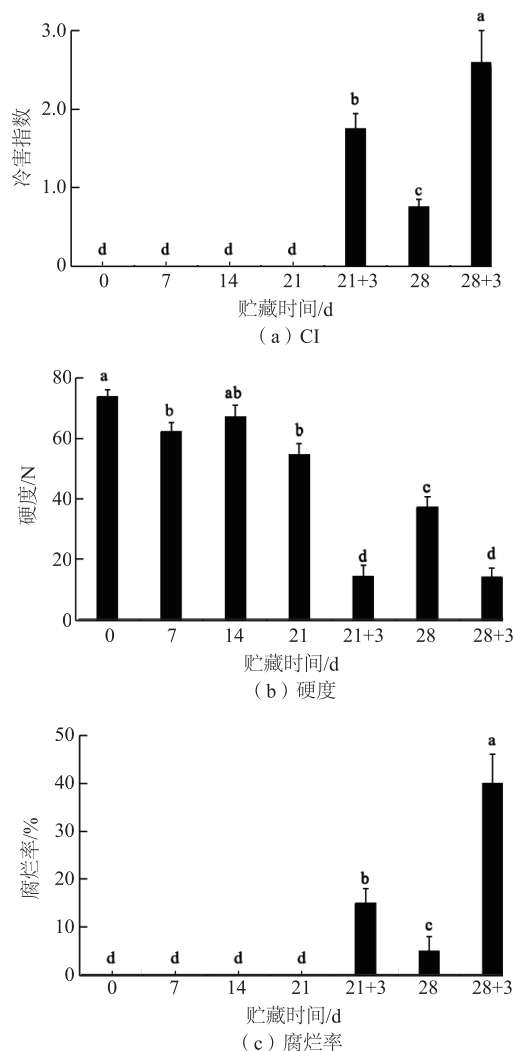
采用 Microsoft Office Excel 2010 对试验数据绘图,采用 SPSS statistics 21.0 对数据统计分析,显著性分析选择 Duncan 多重比较法,显著性水平设置成 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 桃果实贮藏品质分析

随着贮藏天数的增加,桃果实在 21+3 d 出现明显的冷害症状,即果肉组织出现轻微的褐变和絮败现象,见图 1(a)。在 28+3 d 时冷害症状加重,使桃果实失去商业价值。桃果实在低温贮藏过程中硬度呈现逐渐下降趋势,但在 14 d 之前变化不显著,从 21~28 d 出现显著下降。此外,当桃果实转移到 25 $^{\circ}\text{C}$ 货架期贮藏后,硬度下降迅速,显著低于 4 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏,见图 1(b)。桃果实在第 21+3 天开始出现腐烂,腐烂率为 15%,在第 28+3 天,腐烂率达到 40%,已

完全失去其贮藏保鲜价值,见图 1(c)。



不同字母代表显著性差异 ($P < 0.05$); 0、7、14、21、28 d 储存条件为 $(4 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 85%~90%; 21+3 d 和 28+3 d 储存条件为 $(25 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 85%~90%。

图 1 桃果实贮藏过程中 CI、硬度和腐烂率的变化

Fig. 1 Changes in CI, firmness and decay incidence in peaches during storage

由于在低温贮藏 28 d 和常温货架期 28+3 d 都出现严重的冷害症状和较高的腐烂率,已经失去了商业价值,因此后续选用 0、7、14、21、21+3 d 共 5 个时间点的桃果实进行转录组测序分析。

2.2 差异表达基因 KEGG 通路富集分析

根据 KEGG 富集分析,共鉴定出 125 条 KEGG 代谢通路,其中差异表达基因显著富集的前 20 个代谢途径见图 2。大量研究表明,植物激素广泛参与低温胁迫引起的应激反应^[9],作者共鉴定出 112 个

参与植物激素信号转导的差异基因,其中茉莉酸(jasmonic acid,JA)信号转导通路被显著富集。 α -亚麻酸是桃果实中JA生物合成的起始底物并影响内源JA信号通路转导^[10],而本研究中 α -亚麻酸代谢通路被显著富集。前期研究表明,淀粉及可溶性糖的转化可以减轻植物受到的低温胁迫^[11],细胞器和膜系统的完整性可提高植物在冷藏期间的抗冷性^[12],谷胱甘肽可通过参与植物细胞内多种代谢活动来提高植物的胁迫耐受性^[12],以上代谢途径在桃果实冷害形成过程中均被显著富集。作者对包括淀粉和蔗糖代谢、戊糖和葡萄糖醛酸转化、谷胱甘肽代谢、 α -亚麻酸代谢和JA信号转导途径进行重点分析,探究其在桃果实冷害形成过程中的变化规律。

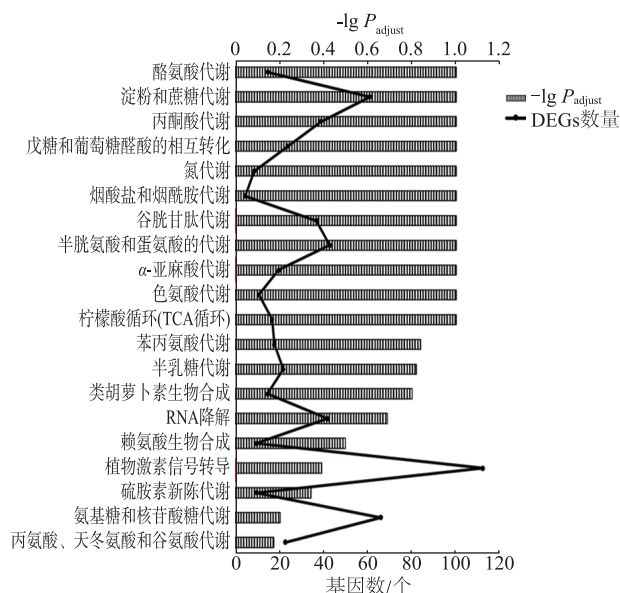


图2 KEGG 通路富集分析

Fig. 2 KEGG pathway enrichment analysis

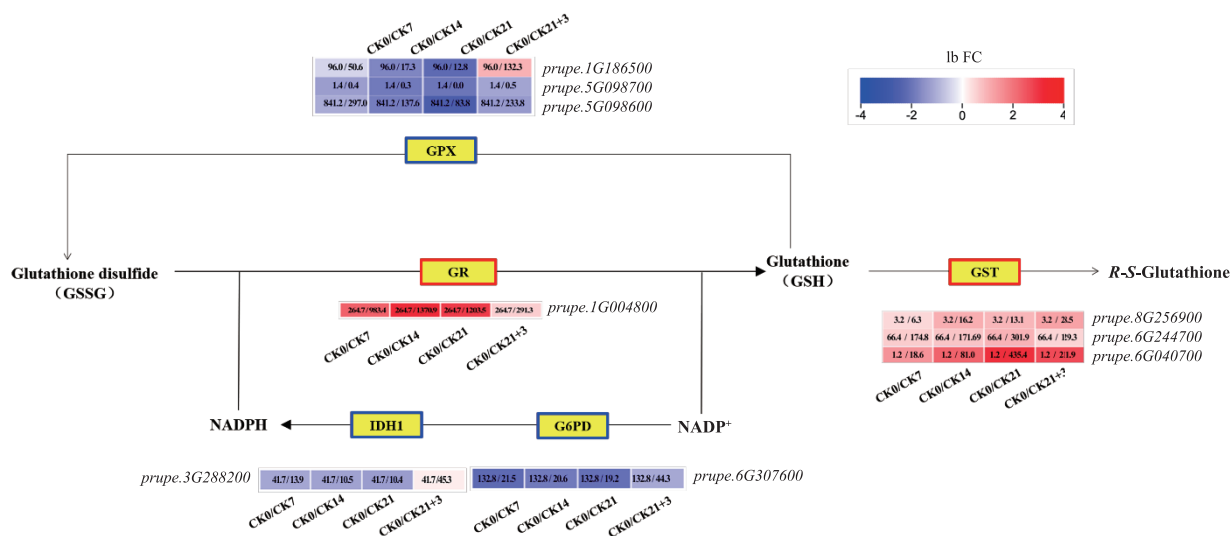
2.3 关键代谢通路分析

2.3.1 谷胱甘肽代谢 谷胱甘肽是一种由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成的化合物,参与细胞内的多种代谢活动。在谷胱甘肽代谢中,谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase,GR)在激活抗低温胁迫的保护机制中起着至关重要的作用,其借助还原型辅酶Ⅱ(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)的作用催化氧化型谷胱甘肽(glutathione oxidized,GSSG)还原生成还原型谷胱甘肽(reduced glutathione,GSH),能够提高GSH积累并保持较高GSH/GSSG比率,最终使植物胁迫耐性提高^[13]。作者从转录组学数据中共鉴定出9个参与谷胱甘肽代

谢的差异基因。如图3所示,谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GPX)基因 *prupe.5G098700*、*prupe.5G098600* 在低温贮藏期和常温货架期均呈下调趋势,而另一个基因 *prupe.1G186500* 在低温贮藏期处于下调,常温货架期处于上调。GR基因 *prupe.1G004800* 与谷胱甘肽转移酶(glutathione S-transferase,GST)基因 *prupe.8G256900*、*prupe.6G244700* 和 *prupe.6G040700* 在整个贮藏期均呈上调趋势。而异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase,IDH1)基因 *prupe.3G288200* 在低温贮藏期均呈现下调趋势,在常温货架期基因表达量无明显变化。葡萄糖-6-磷酸-1-脱氢酶(glucose 6-phosphatedehydrogenase,G6PD)基因 *prupe.6G307600* 在低温贮藏期和常温货架期均出现明显下调。

在低温贮藏期和常温货架期,GRs和GSTs的表达水平均出现明显上调,表明受低温胁迫,诱导了桃果实的抗氧化系统,加速了GSSG的转化,以减少GSSG的积累而造成对果实的持续氧化损伤。研究表明,提高GR和GST的活性与基因表达水平,可以增强果实的抗冷性和防御反应^[14-15]。本研究中GPXs表达水平的下降表明随着冷害的形成,GSH向GSSG的转化能力逐渐减弱,无法维持较强的抗氧化能力,造成了活性氧的不断积累,进而造成氧化损伤。Pastori等人发现通过脱落酸处理可以调节GSH/GSSG比值来实现氧化还原信号转导,以提高胁迫应激反应^[16]。因此推测,谷胱甘肽代谢途径中GSH和GSSG转化能力的改变与桃果实冷害形成有一定的相关性。

2.3.2 淀粉和蔗糖代谢 糖在植物的抗冷性中起着重要的作用,当受到低温胁迫时,可溶性糖之间的转化,特别是蔗糖向葡萄糖和果糖的转化可以作为能量供给来源,减轻植物细胞受到的低温胁迫损伤。其中参与蔗糖代谢的酶,如UDP-葡萄糖焦磷酸酶(UGP2)、 β -果糖糖苷酶(INV)和蔗糖合成酶(SS)是调控果实中可溶性糖转化的重要因素^[17]。UGP2可以促进D-葡萄糖-1-磷酸转化成UDP-葡萄糖,SS可催化蔗糖合成和分解的可逆反应,INV能催化植物中蔗糖裂解形成葡萄糖和果糖^[18]。作者从转录组学数据中筛选出10个参与淀粉和蔗糖代谢的差异基因,见图4。在低温贮藏期和常温货架期,UGP2基因 *prupe.3G015000*、*prupe.2G107500*,腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(glucose-1-phosphate adenyl-yl-



GSSG: 氧化型谷胱甘肽; GR: 谷胱甘肽还原酶; GSH: 还原型谷胱甘肽; GPX: 谷胱甘肽过氧化物酶; GST: 谷胱甘肽-S-转移酶; L-Cysteinylglycine: L-半胱氨酰甘氨酸; G6PD: 葡萄糖-6-磷酸-1-脱氢酶; IDH1: 异柠檬酸脱氢酶; NADPH: 还原型辅酶 II; NADP⁺: 氧化型辅酶 II。

图3 桃果实贮藏期间谷胱甘肽代谢中主要 DEGs 分析

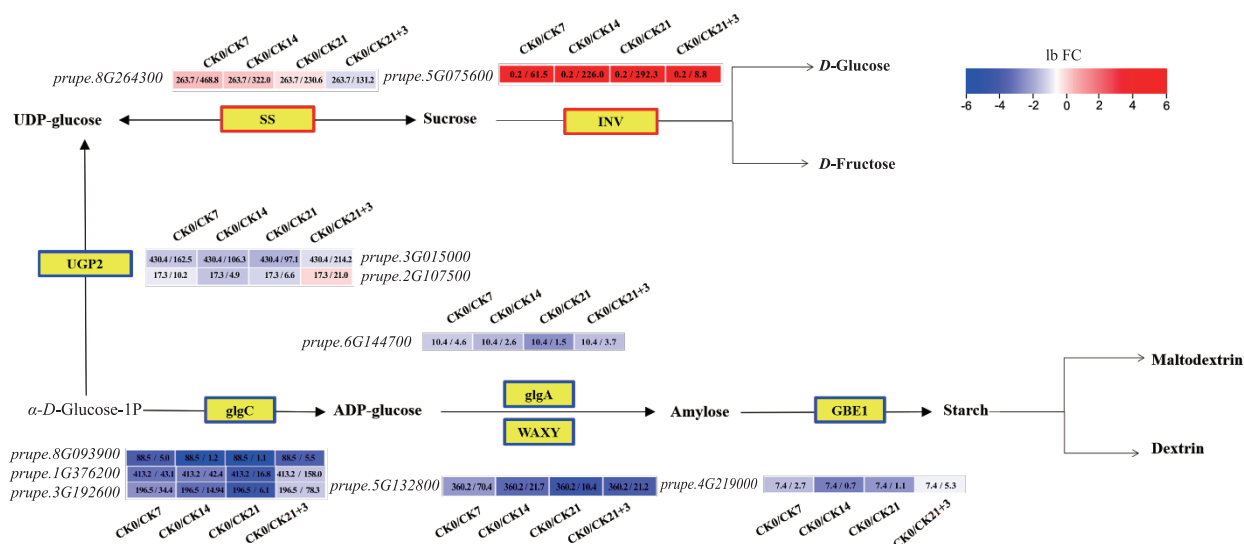
Fig. 3 Analysis of major DEGs identified in glutathione metabolism in peaches during storage

transferase, glgC) 基因 *prupe.8G093900*、*prupe.1G376200*、*prupe.3G192600*, 淀粉粒结合淀粉合成酶 (WAXY) 基因 *prupe.5G132800*, 淀粉合酶 (starch synthase, glgA) 基因 *prupe.6G144700* 以及淀粉分支酶 (1,4- α -glucan branching enzyme, GBE1) 基因 *prupe.5G132800* 均呈下调趋势; UGP2 基因 *prupe.2G107500* 在低温贮藏期呈下调趋势, 在常温货架期呈上调趋势; INV 基因 *prupe.5G075600* 在低温贮藏期和常温货架期均呈上调趋势; SS 基因 *prupe.8G264300* 在低温贮藏期呈上调趋势, 在常温货架期呈下调趋势。有研究者发现, 较高的蔗糖含量可以维持果实细胞膜稳定性, 从而减缓桃果实冷害的发生^[11,19]。本研究结果表明, 在整个贮藏期蔗糖合成和分解通路被激活, SS 和 INV 的表达水平显著上调, 可能促进了贮藏过程中蔗糖向果糖和葡萄糖的转化, 以此来响应低温胁迫, 提高桃果实的抗冷性。

此外, 淀粉是植物碳水化合物的主要贮藏物质, 也是介导植物对冷胁迫反应的关键物质^[20]。淀粉主要合成途径包括通过 glgC 催化 α -D-葡萄糖-1-磷酸生成 ADP-葡萄糖, 再由 glgA 和 WAXY 共同催化生成直链淀粉, 最后在 GBE1 作用下生成淀粉。相关研究表明, 维持较高的淀粉含量可以延缓冷害的发生。本研究中, 在低温贮藏期和常温货架期, 桃果实淀粉合成途径中 glgCs、glgA、WAXY 和 GBE1 的

表达水平均呈下调趋势, 抑制了淀粉的生成, 促进桃果实的软化, 同时减少了蔗糖代谢的底物供给来源, 这可能促进了长期低温贮藏下桃果实冷害的生成。因此, 低温胁迫下淀粉合成途径的抑制与蔗糖代谢途径的激活与桃果实冷害的形成紧密相关。

2.3.3 戊糖和葡萄糖醛酸转化途径 在对黄瓜^[21]、枇杷^[22]、桃^[23-24]的研究中发现, 果实冷害的形成与果胶降解有关, 果胶降解途径相关的酶包括果胶甲基酯酶 (PME)、多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 和果胶裂解酶 (PL)^[25-26]。PME 将细胞壁中甲氧基化的果胶去酯化, 催化果胶脂酸转化为果胶酸, 可以被其他酶进一步水解, 如 PG^[27-28]。PG 是导致果实软化的重要酶, 作用于果胶分子水解半乳糖苷键, 生成低聚半乳糖醛酸或直接催化生成半乳糖醛酸, 从而导致果胶物质的分解和细胞壁的解体, 促使果实软化^[29]。PL 参与果胶结构的裂解, 与果实成熟软化有关。研究表明, 水果的软化过程总是伴随着细胞壁降解酶的激活, 例如番茄^[30]、蓝莓^[31]和苹果^[32]。作者从转录组学数据中筛选的戊糖和葡萄糖醛酸转化途径中的差异基因主要涉及果胶降解过程。如图 5 所示, PME 基因 *prupe.1G529500*, PG 基因 *prupe.1G239900* 以及 PL 基因 *prupe.4G262200* 和 *prupe.4G261900* 在低温贮藏期和常温货架期均呈上调趋势, 且 *prupe.1G239900* 在常温货架期的上调显著高于低温贮藏



D-Glucose: *D*-葡萄糖; *D*-Fructose: *D*-果糖; Sucrose: 蔗糖; INV: β -果糖糖苷酶; SS: 蔗糖合酶; UDP-glucose: UDP-葡萄糖; UGP2: UTP-1-磷酸尿苷酰转移酶; α -*D*-Glucose-1-p: α -*D*-葡萄糖-1-磷酸; glgC: 葡萄糖-1-磷酸腺苷酸转移酶; ADP-glucose: ADP-葡萄糖; WAXY: 颗粒结合型淀粉合成酶; glgA: 淀粉合酶; Amylose: 直链淀粉; GBE1: 1,4- α -葡聚糖分支酶; Starch: 淀粉; Maltodextrin: 麦芽糊精; Dextrin: 糊精。

图4 桃果实贮藏期间淀粉和蔗糖代谢中主要 DEGs 分析

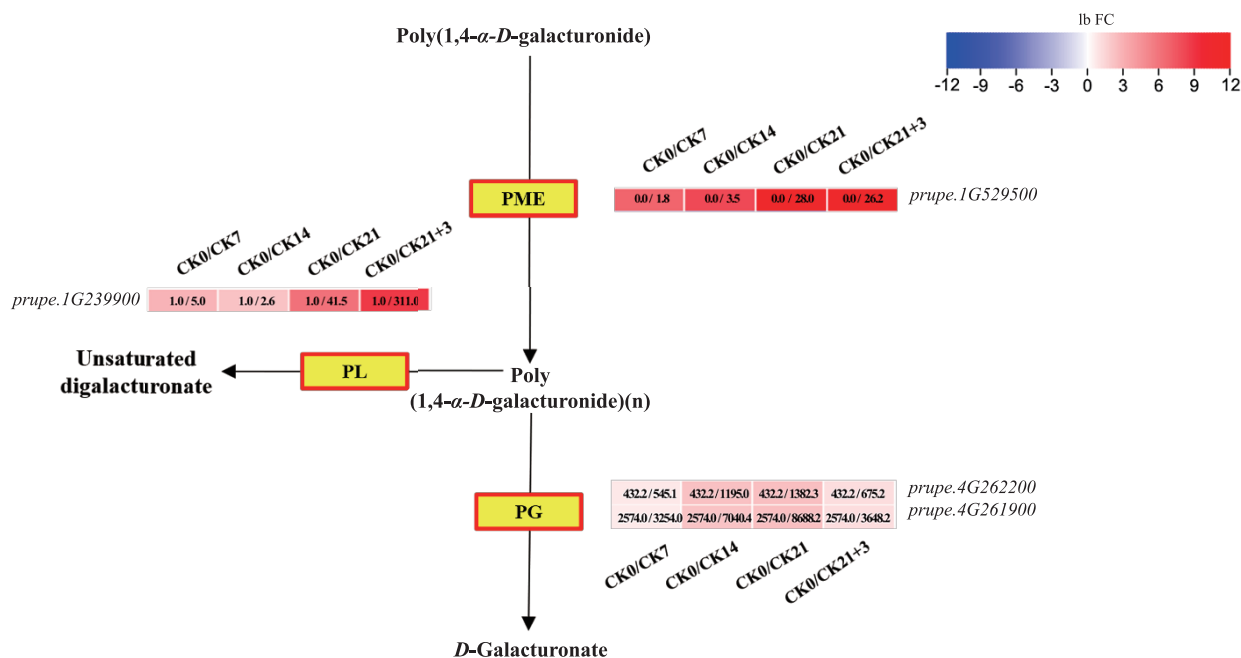
Fig. 4 Analysis of major DEGs identified in starch and sucrose metabolism in peaches during storage

期。本研究结果表明,在整个贮藏过程中 PME、PG 和 PL 所生成的相关基因都明显上调,且硬度不断下降,说明随着贮藏时间的延长,细胞壁正常代谢发生改变,细胞壁结构被破坏,加速了桃果实的软化,这和 Hou 的研究结果一致^[33]。

2.3.4 α -亚麻酸代谢途径 经转录组数据分析,发现 9 个参与 α -亚麻酸代谢途径的差异表达基因。如图 6 所示,在低温贮藏期和常温货架期脂氧合酶 (lipoxygenase, LOX) 基因 *prupe.3G039200*、*prupe.4G047800* 和 *prupe.2G005300*, 丙二烯氧化环化酶 (allene oxide cyclase, AOC) 基因 *prupe.1G306100*, 12-氧-植物二烯酸还原酶 (12-oxo-phytodienoic acid reductase, OPR) 基因 *prupe.7G200800* 和脂肪酰辅酶 A 氧化酶 1 (acyl-CoA oxidase A, COX1) 基因 *prupe.7G067100* 均呈下调趋势; 丙二烯氧化合成酶 (allene oxide synthase, AOS) 基因 *prupe.1G386300* 在低温贮藏期处于下调趋势, 在常温货架期处于上调趋势。3-酮酯酰辅酶 A 硫解酶 (3-ketoacyl CoA thiolase, 3-KAT) 基因 *prupe.1G003300* 在低温贮藏期和常温货架期均出现明显上调; 茉莉酸羧基甲基转移酶 (jasmonic acid carboxyl methyltransferase, JMT) 基因 *prupe.1G375700* 在低温贮藏期处于上调, 在常温货

架期处于下调。研究发现, α -亚麻酸代谢途径的关键酶 LOXs、AOS、AOC、OPR 和 ACOX1 的基因表达水平在贮藏过程中显著下调, 表明 α -亚麻酸代谢途径在冷害形成过程中被显著抑制, 从而减少了 JA 的生成。但有趣的是, 催化 JA 向 MeJA 转化的关键酶 JMT 的基因表达水平在低温贮藏期间被显著激活, 可能促进了 MeJA 的合成, 这可能与桃果实低温贮藏过程中果实成熟度的增加及风味物质不断形成有关。

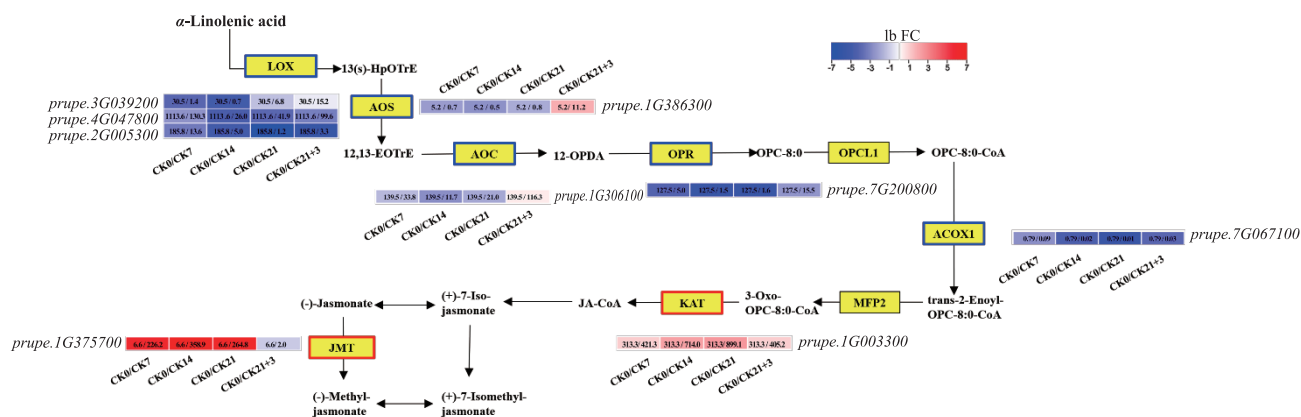
2.3.5 茉莉酸信号转导途径 茉莉酸是一种植物激素和信号传导分子, 不仅能调节植物的生长发育, 还可以有效介导植物对非生物胁迫的防御反应。因此, JA 的生物合成及其信号转导途径在参与植物对低温的响应和适应过程中起重要作用^[34-35]。作者从转录组学数据中共筛选出 6 个参与 JA 信号转导相关的差异基因。如图 7 所示, 在低温贮藏期和常温货架期, 茉莉酸共轭物合成酶 (jasmonic acid-amido synthetase, JAR1) 基因 *prupe.2G184100*、转录抑制因子 JAZ 蛋白基因 *prupe.7G194800*, *prupe.5G235300* 和 MYC2 转录因子 *prupe.5G130700*、*prupe.2G195300* 均呈下调趋势, 而茉莉酸受体基因 (COR-insensitive 1, COI1) *prupe.*



PME: 果胶甲基酯酶; PG: 多聚半乳糖醛酸酶; PL: 果胶酸裂解酶; Poly (1,4- α -D-galacturonide)(n): 聚半乳糖醛酸; D-Galacturonate: 半乳糖醛酸; Unsaturated digalacturonate: 不饱和半乳糖醛酸。

图 5 桃果实贮藏期间细胞壁代谢中主要 DEGs 分析

Fig. 5 Analysis of major DEGs identified in cell wall metabolism in peaches during storage



α -Linolenic acid: α -亚麻酸; LOX2S: 脂氧合酶; 13(s)-HpOTrE: 13s-氢过氧亚麻酸; AOS: 丙二烯氧化合成酶; 12,13-EOTrE: 12,13-环氧十八碳三烯酸; AOC: 丙二烯氧化环化酶; 12-OPDA: 12-氧植物二烯酸; OPR: 12-氧-植物二烯酸还原酶; OPC-8:0: 3-氧代-2-(顺-2'-戊烯基)-环戊烷-1-辛酸; OPCL1: OPC8:0 辅酶 A 连接酶; OPC-8:0-CoA: OPC-8:0 辅酶 A; ACOX1: 脂肪酰辅酶 A 氧化酶 1; trans-2-Enoyl-OPC-8:0-CoA: 反式-2-烯-OPC-8:0 辅酶 A; MFP2: 烯酰辅酶 A 水合酶; 3-Oxo-OPC8:0-CoA: 3-氧-OPC8:0-辅酶 A; KAT: 3-酮酯酰辅酶 A 硫解酶; JA-CoA: 茉莉酸辅酶 A; JMT: 茉莉酸羧基甲基转移酶; (+)-7-Isojasmonate: (+)-7-异茉莉酸; (+)-7-Isomethyl-jasmonate: (+)-7-异茉莉酸甲酯; (-)-Jasmonate: (-)-异茉莉酸; (-)-7-Methyljasmonate: (-)-7 茉莉酸甲酯。

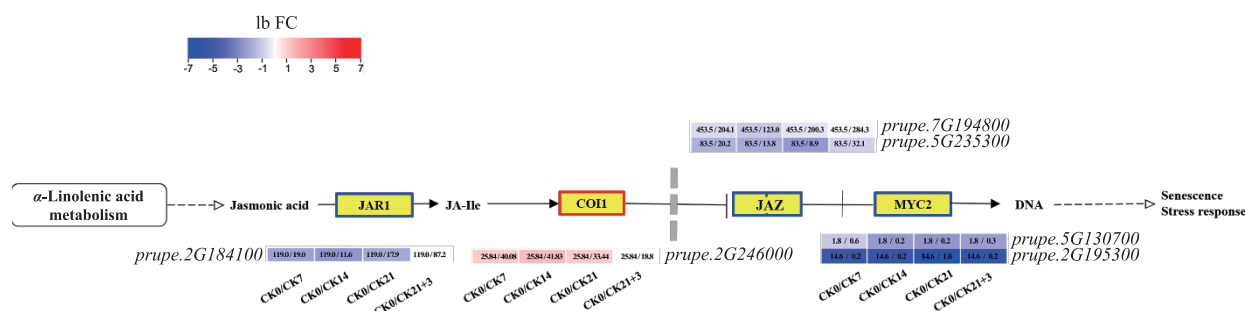
图 6 桃果实贮藏期间 α -亚麻酸代谢中主要 DEGs 分析

Fig. 6 Analysis of major DEGs identified in α -linolenic acid metabolism in peaches during storage

1G386300 在低温贮藏期略微上调,但在常温货架期下调。

JA 作为重要的信号转导分子,在 JAR1 的催化下与异亮氨酸结合形成 JA-Ile,并在活性 JA-Ile 的作用下,COI1 与 JAZ 蛋白结合,促使 JAZ 蛋白降解,解除对转录因子 MYC2 的抑制作用,从而激活 JA 调控的各种应激反应。研究发现,植物体内 JA 水平极低时,茉莉酸信号途径的抑制蛋白 JAZ 降解速度就会下降,抑制了转录因子 MYC2 的释放,从而抑制 JA 反应^[36]。作者发现 JA 信号转导途径中的相

关酶 JAR1、JAZs、MYC2 的基因都出现明显下调,表明在冷害形成过程中 JA 信号通路受到低温胁迫的抑制,降低了对下游 JA 信号响应基因的调控作用。目前,越来越多的研究通过外源处理来介导植物内源激素和信号通路,从而应对各种胁迫反应^[37-38]。因此,探究 α -亚麻酸代谢途径和 JA 信号转导途径在冷害形成过程中的关键作用及调控机制,对耐寒新品种的培育及采前/采后处理方法的挖掘都有指导作用^[39-40]。



α -Linolenic acid metabolism: α -亚麻酸代谢; Jasmonic acid: 茉莉酸; JAR1: 茉莉酸氨基酸结合酶; COI1: 受体基因; JAZ: 转录抑制因子 JAZ 蛋白; MYC2: 转录因子。

图 7 桃果实低温贮藏期间茉莉酸信号转导中主要 DEGs 分析

Fig. 7 Analysis of major DEGs identified in jasmonic acid signal transduction in peaches during storage

3 结 语

桃是一种典型的冷敏型水果,而冷害的发生受到多种因素共同调控,果实内部的相关代谢、受低温诱导的转录因子、植物激素等都参与了低温胁迫所引起的应激反应。作者通过转录组学分析,筛选出桃果实低温贮藏期和常温货架期显著变化的

代谢途径,并分析了其变化规律与桃果实冷害的关系。通过转录组学发现,桃果实在冷害形成过程中存在显著的基因表达量差异,通过 KEGG 代谢通路富集分析发现,淀粉和蔗糖代谢途径、果胶降解途径、谷胱甘肽代谢途径、 α -亚麻酸代谢途径和 JA 信号转导途径与桃果实冷害形成机理密切相关。

参考文献:

- [1] LI P, DAI S J, ZHAO B, et al. Effect of low temperatures on pulp browning and endogenous abscisic acid and ethylene concentrations in peach (*Prunus persica* L.) fruit during post-harvest storage[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2014, 89(6): 686-692.
- [2] JIN P, ZHU H, WANG J, et al. Effect of methyl jasmonate on energy metabolism in peach fruit during chilling stress[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(8): 1827-1832.
- [3] 李姚瑶, 曹毛毛, 王小璐, 等. 外源 *p*-香豆酸处理对采后桃果实苯丙烷代谢和抗氧化能力的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(23): 227-232.
- LI Y Y, CAO M M, WANG X L, et al. Effect of exogenous *p*-coumaric acid on phenylpropanoid metabolism and antioxidant capacity of postharvest peach fruit[J]. *Food Science*, 2019, 40(23): 227-232. (in Chinese)
- [4] 张籽润. 24-表油菜素内酯对杏果实贮藏期间糖代谢与抗冷性关系的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2018.
- [5] 王静, 刘彩红, 吕卓, 等. 草酸诱导哈密瓜采后耐冷性的转录组构建与分析[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(17): 103-109.
- WANG J, LIU C H, LÜ Z, et al. Transcriptome construction and analysis of cold-resistant induced by oxalic acid in postharvest

- Hami melon fruit[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2019, 40(17): 103-109. (in Chinese)
- [6] 单春会, 陈卫, 唐凤仙, 等. 青霉菌侵染前后哈密瓜转录组的构建及分析[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(8): 806-814.
SHAN C H, CHEN W, TANG F X, et al. Construction and analysis of the transcriptome before and after infected by *Penicillium* in Hami melon fruit[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2016, 35(8): 806-814. (in Chinese)
- [7] JIN P, ZHU H, WANG L, et al. Oxalic acid alleviates chilling injury in peach fruit by regulating energy metabolism and fatty acid contents[J]. **Food Chemistry**, 2014, 161: 87-93.
- [8] 韩晓云, 刘鹏, 王震, 等. 核桃青皮提取液对樱桃的保鲜作用[J]. 北方园艺, 2020(6): 109-114.
HAN X Y, LIU P, WANG Z, et al. Effect of extracts from walnut peel on storage quality of cherry[J]. **Northern Horticulture**, 2020(6): 109-114. (in Chinese)
- [9] 高红秀, 朱琳, 刘天奇, 等. 水稻植物激素响应低温胁迫反应的转录组分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(13): 4188-4197.
GAO H X, ZHU L, LIU T Q, et al. Transcriptomic analysis of plant hormone response to low temperature stress in rice[J]. **Molecular Plant Breeding**, 2021, 19(13): 4188-4197. (in Chinese)
- [10] RUAN J J, ZHOU Y X, ZHOU M L, et al. Jasmonic acid signaling pathway in plants[J]. **International Journal of Molecular Sciences**, 2019, 20(10): 2479.
- [11] 余芳, 邵兴锋, 许凤, 等. 果实低温贮藏期间糖代谢变化研究进展[J]. 果树学报, 2014, 31(1): 125-131.
YU F, SHAO X F, XU F, et al. Advances on sugar metabolism study in fruits stored at low temperatures[J]. **Journal of Fruit Science**, 2014, 31(1): 125-131. (in Chinese)
- [12] 侯媛媛. 水杨酸处理减轻杏果实冷害机理的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014.
- [13] 千春录. 黄瓜果实成熟度与耐冷性的关系及其生理机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [14] JIAO C F, CHAI Y F, DUAN Y Q. Inositol 1,4,5-trisphosphate mediates nitric-oxide-induced chilling tolerance and defense response in postharvest peach fruit[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2019, 67(17): 4764-4773.
- [15] 王思奇. 抗氧化系统调控甘薯贮藏特性的机制研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2019: 48-62.
- [16] PASTORI G M, FOYER C H. Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress, the central role of “redox” and abscisic acid-mediated controls[J]. **Plant Physiology**, 2002, 129(2): 460-468.
- [17] CHEN Y R, GE Y H, ZHAO J R, et al. Postharvest sodium nitroprusside treatment maintains storage quality of apple fruit by regulating sucrose metabolism[J]. **Postharvest Biology and Technology**, 2019, 154: 115-120.
- [18] 杨运良, 李建勋, 马革农. 基于转录组测序的火龙果果肉不同发育时期淀粉和蔗糖代谢途径相关基因差异表达分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(6): 1520-1530.
YANG Y L, LI J X, MA G N. Differential expression analysis of genes related to starch and sucrose metabolism pathway in different developmental stages of dragon fruit pulp based on transcriptome[J]. **Chinese Journal of Tropical Crops**, 2021, 42(6): 1520-1530. (in Chinese)
- [19] BURGER Y, SCHAFFER A A. The contribution of sucrose metabolism enzymes to sucrose accumulation in *Cucumis melo* [J]. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 2007, 132(5): 704-712.
- [20] WANG J, MAO L C, LI X W, et al. Oxalic acid pretreatment reduces chilling injury in Hami melons (*Cucumis melo* var. *reticulatus* Naud.) by regulating enzymes involved in antioxidative pathways[J]. **Scientia Horticulturae**, 2018, 241: 201-208.
- [21] 沈丽雯, 刘娟, 董红敏, 等. 热激处理减轻黄瓜冷害与细胞壁代谢的关系[J]. 食品工业科技, 2015, 36(23): 329-332.
SHEN L W, LIU J, DONG H M, et al. Impact of heat shock treatment on cucumber cell wall composition and cell wall hydrolase activity[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2015, 36(23): 329-332. (in Chinese)
- [22] CAO S F, ZHENG Y H, WANG K T, et al. The effects of 1-methylcyclopropene on chilling and cell wall metabolism in loquat fruit[J]. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, 2010, 85(2): 147-153.
- [23] 朱树华, 刘孟臣, 周杰. 一氧化氮熏蒸对采后肥城桃果实细胞壁代谢的影响[J]. 中国农业科学, 2006, 39(9): 1878-1884.
ZHU S H, LIU M C, ZHOU J. Effects of fumigation with nitric oxide on cell wall metabolisms of postharvest Feicheng peaches [J]. **Scientia Agricultura Sinica**, 2006, 39(9): 1878-1884. (in Chinese)
- [24] 廖云霞, 冉自强, 王丹, 等. γ -氨基丁酸处理对桃果实冷藏期间细胞壁代谢及冷害的影响[J]. 食品科技, 2017, 42(11): 50-56.
LIAO Y X, RAN Z Q, WANG D, et al. Effect of γ -amino butyric acid treatments on cell wall metabolism and chilling injury in peaches during the refrigerated storage[J]. **Food Science and Technology**, 2017, 42(11): 50-56. (in Chinese)

- [25] NUNES C, SANTOS C, PINTO G, et al. Effects of ripening on microstructure and texture of “Ameixa d’Elvas” candied plums [J]. **Food Chemistry**, 2009, 115(3): 1094-1101.
- [26] ZHU X Y, SHEN L, FU D W, et al. Effects of the combination treatment of 1-MCP and ethylene on the ripening of harvested banana fruit[J]. **Postharvest Biology and Technology**, 2015, 107: 23-32.
- [27] KHADEMI O, BESADA C, MOSTOFI Y, et al. Changes in pectin methylesterase, polygalacturonase, catalase and peroxidase activities associated with alleviation of chilling injury in persimmon by hot water and 1-MCP treatments[J]. **Scientia Horticulturae**, 2014, 179: 191-197.
- [28] ZERPA-CATANHO D, ESQUIVEL P, MORA-NEWCOMER E, et al. Transcription analysis of softening-related genes during postharvest of papaya fruit (*Carica papaya* L. ‘Pococí’ hybrid)[J]. **Postharvest Biology and Technology**, 2017, 125: 42-51.
- [29] 刘景安. 西瓜果实品质形成的生理生化机制与基因表达谱研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [30] YANG L, HUANG W, XIONG F J, et al. Silencing of SIPL, which encodes a pectate lyase in tomato, confers enhanced fruit firmness, prolonged shelf-life and reduced susceptibility to grey mould[J]. **Plant Biotechnology Journal**, 2017, 15(12): 1544-1555.
- [31] WANG H B, CHENG X, WU C E, et al. Retardation of postharvest softening of blueberry fruit by methyl jasmonate is correlated with altered cell wall modification and energy metabolism[J]. **Scientia Horticulturae**, 2021, 276: 109752.
- [32] GWANPUA S G, MELLIDOU I, BOECKX J, et al. Expression analysis of candidate cell wall-related genes associated with changes in pectin biochemistry during postharvest apple softening[J]. **Postharvest Biology and Technology**, 2016, 112: 176-185.
- [33] HOU Y Y, WU F, ZHAO Y T, et al. Cloning and expression analysis of polygalacturonase and pectin methylesterase genes during softening in apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit[J]. **Scientia Horticulturae**, 2019, 256: 108607.
- [34] MIN D D, LI F J, ZHANG X H, et al. *SIMYC2* involved in methyl jasmonate-induced tomato fruit chilling tolerance[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2018, 66(12): 3110-3117.
- [35] ZHAO M L, WANG J N, SHAN W, et al. Induction of jasmonate signalling regulators MaMYC2s and their physical interactions with MaICE1 in methyl jasmonate-induced chilling tolerance in banana fruit[J]. **Plant, Cell & Environment**, 2013, 36(1): 30-51.
- [36] 王青. 桑树茉莉酸生物合成与信号转导途径基因的鉴定和功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.
- [37] LIU C X, CHEN L L, ZHAO R R, et al. Melatonin induces disease resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit by activating jasmonic acid signaling pathway[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2019, 67(22): 6116-6124.
- [38] CHEN M S, GUO H M, CHEN S Q, et al. Methyl jasmonate promotes phospholipid remodeling and jasmonic acid signaling to alleviate chilling injury in peach fruit[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2019, 67(35): 9958-9966.
- [39] 解梦汐, 于森, 鲁明, 等. 超声诱导对发芽花生的转录组分析及苯丙烷类合成相关基因的挖掘[J]. **现代食品科技**, 2022, 38(2): 64-71.
- XIE M X, YU M, LU M, et al. Transcriptomic analysis of the effects of ultrasound induction on peanut sprout and the mining of genes involved in phenylpropanoid biosynthesis[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2022, 38(2): 64-71. (in Chinese)
- [40] 何近刚, 冯云霄, 程玉豆, 等. 1-甲基环丙烯和自发气调包装处理诱导鸭梨冷害过程中果肉褐变及水孔蛋白基因表达的变化[J]. **现代食品科技**, 2021, 37(7): 128-136.
- HE J G, FENG Y X, CHENG Y D, et al. Analysis of flesh browning, expressing characteristics of aquaporin genes in ‘Yali’ pear during chilling injury induced by 1-MCP and MAP[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2021, 37(7): 128-136. (in Chinese)