

郭绍雷,许建兰,张斌斌,等. 基于广泛靶向代谢组的桃果实衰老软化过程差异代谢物筛选与鉴定[J]. 江苏农业科学,2024,52(6):198-205.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.06.026

# 基于广泛靶向代谢组的桃果实衰老软化过程 差异代谢物筛选与鉴定

郭绍雷,许建兰,张斌斌,张妤艳,沈志军,马瑞娟,俞明亮

(江苏省农业科学院果树研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室,江苏南京 210014)

**摘要:**筛选与鉴定参与调控桃果实采后贮藏过程衰老软化相关代谢物质,以深入了解桃果实采后衰老软化相关生理生化机制。常温贮藏条件下,萘乙酸处理可加速霞晖 8 号七成熟桃果实衰老软化,采用超高液相色谱串联质谱技术,检测桃果实贮藏 0、3、6 d 代谢物质的变化,选取差异倍数(≥2 或≤0.5),采用正交偏最小二乘判别分析模型所获得的变量重要性投影值(≥1)的代谢物为差异代谢物。结果表明,在霞晖 8 号桃果实 5 组样品中共检测到 816 种代谢物,可被分为 11 类,其中检测到酚酸类物质 160 种,占比最高。通过比较在各分组中代谢物定量信息的差异倍数变化前 10 的代谢物,结合 KEGG 信号通路的差异代谢物聚类分析,筛选并鉴定到可能参与桃果实软化的各种代谢物 29 种,其中脂质与酚酸类物质鉴定到最多,各有 7 种。

**关键词:**桃果实;衰老软化;代谢组;差异代谢物

**中图分类号:**S662.101 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)06-0198-08

桃[ (*Prunus persica* L.) Batsch ]原产于中国,在世界多地广泛栽种,依据联合国粮食及农业组织统计( <https://www.fao.org/faostat/zh/#data/QCL> ),2021 年我国桃栽培面积和产量占全球比重超过 50%,均位列世界第一。然而,桃是典型的呼吸跃变型水果。常温下,成熟桃果实软化迅速,不方便采

运,货架期较短,果实易损耗<sup>[1]</sup>,造成重大经济损失,是制约我国桃产业进一步发展的因素之一。桃果实衰老软化相关机理的探究,将为桃果实采后保鲜技术的进步及耐贮新品种的选育提供理论依据。

乙烯的生物合成和信号转导,以及下游的细胞壁降解,是存在于果实衰老软化中的复杂生理生化过程<sup>[2-4]</sup>。研究表明,乙烯可通过调控木葡聚糖内糖基转移酶/水解酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、果胶甲酯酶以及多聚半乳糖醛酸酶等细胞壁降解相关酶活性,参与调控果实衰老软化<sup>[5-7]</sup>。还有研究表明,包括 MADS-box、NAC、ERF 等在内的转录因子,可通过调控乙烯生物合成或信号转导,影响果实衰老软化进程<sup>[8-9]</sup>。在桃果实中,多聚半乳糖醛酸酶是决定果实衰老软化进程的主要因素之一,通过外源乙烯

收稿日期:2023-10-23

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-30);江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目(编号:JBGS[2021]082)。

作者简介:郭绍雷(1988—),男,山东郯城人,博士,助理研究员,主要从事桃种质资源与新品种选育工作。E-mail:guoshaolei0305@126.com。

通信作者:俞明亮,博士,研究员,主要从事桃种质资源与新品种选育工作。E-mail:mly@jaas.ac.cn。

reaction on the usability of tobacco leaves and identification of components of reaction products [J]. Scientific Reports, 2019, 9:17850.

[22]王万能,项钢燎,翟羽晨,等. 烤烟烟叶烘烤中蛋白质的降解动态变化规律研究[J]. 浙江农业学报,2017,29(12):2120-2127.

[23]艾复清,陈丽萍,韦 谊. 烟叶烘烤过程中蛋白酶活性及蛋白质变化规律[J]. 贵州农业科学,2010,38(2):42-43,47.

[24]宫长荣,刘 霞,王卫峰. 密集烘烤温湿度条件对烟叶生理生化特性和品质的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2007,35(6):77-82,88.

[25]Zong J J,He X A,Lin Z L,et al. Effect of two drying methods on chemical transformations in flue-cured tobacco [J]. Drying Technology,2022,40(1):188-196.

[26]李常军,宫长荣,周义和,等. 烤烟烘烤过程中变黄温度对氮素代谢的影响[J]. 中国烟草学报,2001,7(2):31-35.

[27]赵高坤,任 可,陈妍洁,等. 不同成熟度烟叶烘烤过程中大分子物质代谢动态研究[J]. 西南农业学报,2020,33(9):1950-1957.

[28]王爱华,徐秀红,王松峰,等. 变黄温度对烤烟烘烤过程中生理指标及烤后质量的影响[J]. 中国烟草学报,2008,14(1):27-31.

处理桃果实,使多个多聚半乳糖醛酸酶家族基因成员的表达量,伴随果实衰老软化而显著升高<sup>[10]</sup>。乙烯响应因子 *PpeERF2* 可与 *PpePG1* 启动子结合,负调控 *PpePG1* 的表达,进而影响桃果实成熟软化<sup>[11]</sup>。 $\beta$ -半乳糖苷酶与果实衰老软化密切相关<sup>[12]</sup>,桃  $\beta$ -半乳糖苷酶基因家族成员中 *PpBGAL2* 和 *PpBGAL16* 在不同肉质桃常温贮藏过程中差异表达<sup>[13]</sup>,且 *PpBGAL16* 可能受乙烯诱导参与桃果实衰老软化<sup>[14]</sup>。Gu 等的研究表明,桃 PpHB. G7 转录因子可调控 *PpACS1* 和 *PpACO1* 编码酶 ACS 与 ACO 活性,影响乙烯生物合成,对桃果实的成熟软化起作用<sup>[15]</sup>。生长素与乙烯相互作用调控果实衰老软化成为当前研究的热点。喷施萘乙酸(1-naphthaleneacetic acid,简称 NAA)可使硬质桃迅速变软,并提高乙烯生物合成中 *ACS1*、*ACS7* 与 *ACO3* 等基因的转录水平,增加乙烯释放量<sup>[16]</sup>。最近的研究表明,桃生长素响应因子 PpIAA1 可调控 *PpACS1* 的表达,影响乙烯释放量,而乙烯响应因子 PpERF4 还可通过与 *PpACO1* 和 *PpIAA1* 启动子结合,影响乙烯合成<sup>[17]</sup>。桃生长素响应因子 PpARF6 可结合 *PpACS1* 和 *PpACO1* 的启动子,激活其转录,促进乙烯的生物合成。蛋白水平上, PpARF6 抑制 PpEBF1/PpEBF2 和 PpEIL2/PpEIL3 之间的相互作用,增强 PpEIL2/PpEIL3 蛋白稳定性,对 *PpACS1* 和 *PpACO1* 的转录激活作用增强,进一步促进乙烯合成<sup>[18]</sup>。桃果实衰老软化机制受多种因子调控,是一个复杂的调控网络。目前,相关生理生化机制的研究大多集中在相关酶活的变化和关键基因调控研究。

广泛靶向代谢组学通过建库、检测、分析等流程,完成对代谢物组分的鉴定和相对含量的分析,具有通量高、覆盖广、灵敏度与精度高的特点<sup>[19-20]</sup>。目前该技术已广泛应用于桃<sup>[21-22]</sup>、葡萄<sup>[23]</sup>、冬枣<sup>[24]</sup>、茶<sup>[25]</sup>等园艺作物上。桃果实常温贮藏过程代谢组学的研究还鲜有报道,缺乏相关系统的研究,相关代谢机理仍需探究。本研究选取七成熟桃果实常温贮藏 6 d,通过 NAA 处理加快果实软化,采用基于液质联用的广泛靶向代谢组学技术,鉴定和比较分析常温贮藏过程中代谢物组分和相对含量,为桃果实采后保鲜技术的发展及耐贮藏新品种的选育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究以桃品种霞晖 8 号果实为试验材料,霞

晖 8 号桃果实样品取自江苏省农业科学院果树研究所桃试验园,常规栽培管理。试验于 2021 年进行,选取七成标准(果实完成膨大,底色未转变)桃果实进行采收,采收后立即运回江苏省农业科学院实验室进行贮藏试验。选取大小均一、无病虫害的完好桃果实用于常温贮藏试验。根据 Tatsuki 等的方法<sup>[26]</sup>,对桃果实进行 NAA 喷施处理,NAA 喷施浓度为 1 mmol/L(含 0.01% Tween 20),对照组喷施 0.01% Tween 20 水溶液,喷施频次间隔 1 d。常温贮藏试验,温度设为(25±1)℃,相对湿度为 75%~85%,贮藏 0、3、6 d 各取样 1 次,对照组(CK,0、3、6 d),NAA 处理组(NT,0、3、6 d),5 个桃果实为 1 次重复,所有试验进行 3 次生物学重复。桃果实样品先去皮,后切成大小均匀块状,经液氮快速冷冻处理后,置于-80℃冰箱。

### 1.2 硬度检测

桃果实硬度检测使用 TA-XT Plus 质构仪,使用直径为 8 mm 的探头在桃果实样品腹缝线两侧中间部位进行检测,检测深度是 5 mm,速率是 1 mm/s。

### 1.3 代谢物提取

桃果实样品先通过冻干机真空冷冻干燥,后将桃果实样品磨成粉末。称量 0.100 g 桃果实粉末,置于 1.2 mL 含 70% 甲醇的提取液中进行溶解。对提取液进行涡旋处理 6 次,频次按照每 30 min 涡旋 0.5 min 进行。涡旋处理后的提取液放于 4℃冰箱过夜。离心后,吸取上清液,吸取的上清液使用 0.22 μm 微孔膜过滤,用于检测。

### 1.4 色谱质谱方法

使用超高效液相色谱和串联质谱(色谱仪,SHIMADZU Nexera X2;串联质谱,Applied Biosystems 4500 QTRAP)进行数据采集。超高效液相色谱使用的色谱柱为安捷伦 SB-C<sub>18</sub>,色谱柱的参数(1.8 μm, 2.1 mm,100 mm)。其他液相色谱采集条件:分为 A 和 B 两相,使用超纯水(加入 0.1% 的甲酸)作为 A 相,使用乙腈(加入 0.1% 的甲酸)作为 B 相。洗脱梯度设置:开始后,B 相占比 5%,然后设置 B 相于 9 min 内占比匀速增至 95%,保持 1 min,设置 B 相 11.10 min 内占比减少至 5%,并维持至 14 min。液相色谱采集条件中,进样量 4 μL,流速保持在 0.35 mL/min,柱温保持在 40℃。主要的质谱条件:使用 AB4500 Q TRAP UPLC/MS/MS 质谱系统,配置电喷雾离子源。设定电压 5 500 V(正离子模式)/-4 500 V(负离子模式),源温度设定为

550 ℃,帘气参数设定为 0.172 4 MPa,碰撞诱导电离参数条件设定为高。

1.5 代谢物定性定量分析

代谢物定性分析,以 MWDB( Metware database) 为数据库,数据分析前需删除包括含  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ ,与其他碎片离子在内的各种重复信号,以及产生的同位素信号。然后依据获得的二级谱信息,完成物质的定性解析。通过三重四级杆质谱仪中的多反应监测模式,进行代谢物定量:目标物质的前体离子(母离子)最初利用四级杆获得筛查,后使其经碰撞室诱导电离后形成碎片离子,然后,利用三重四级杆继续筛查,获取 1 个特征碎片离子。数据分析,首先获取桃样品检测到的物质质谱峰,后对其峰面积进行积分。针对试验中不同桃果实样品中的同一个代谢物的质谱出峰,进行积分校正<sup>[27]</sup>。

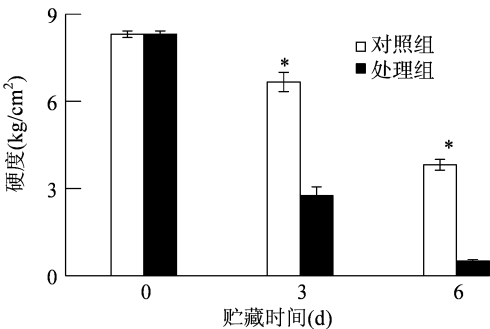
1.6 数据处理与分析

确定差异代谢物的标准:代谢物的差异倍数数值(Fold change,FC)  $\geq 2$  或  $\leq 0.5$ ,采用正交偏最小二乘判别分析模型所获得的变量重要性投影值(variable importance in projection,简称 VIP)  $\geq 1$ <sup>[28]</sup>。使用 KEGG 数据库注释和显示差异代谢物<sup>[29]</sup>。

2 结果与分析

2.1 桃果实常温贮藏过程中硬度变化

霞晖 8 号七成熟桃果实随常温贮藏过程延长,对照组与 NAA 处理组硬度均下降。NAA 处理后使霞晖 8 号七成熟果实硬度迅速下降,下降速度快于对照组(图 1)。



\* 表示与对照差异显著( $P<0.05$ )

图1 霞晖 8 号桃果实常温贮藏条件下硬度变化

2.2 桃果实常温贮藏过程中代谢物种类鉴定

将七成熟桃果实喷施 NAA 常温贮藏 0、3、6 d,对照分别命名 CK 0 d、CK 3 d、CK 6 d,处理组命名为 NT 3 d、NT 6 d。经与数据库比对分析发现,在霞晖 8 号桃果实 5 组样品中共检测到 816 种代谢物,

可被分为 11 类(表 1)。其中检测到酚酸类物质 160 种,占比最高。脂质、黄酮类、氨基酸及其衍生物、有机酸占比较高。

表 1 桃果实贮藏过程代谢物种类及数目

代谢物	数量 (种)	占比 (%)
氨基酸及其衍生物	80	9.80
酚酸类	160	19.61
生物碱	52	6.37
黄酮类	102	12.50
木脂素和香豆素	44	5.39
鞣质	13	1.59
核苷酸及其衍生物	36	4.41
萜类	33	4.04
有机酸	73	8.95
脂质	107	13.11
其他类	116	14.22

2.3 桃果实常温贮藏过程各分组相对含量变化趋势

为研究桃果实差异代谢物不同分组中的相对含量变化趋势,将分组比较中的差异代谢物的相对含量进行标准化,随后进行 K 均值聚类分析。如图 2 所示,桃果实常温贮藏过程中的代谢物相对含量变化趋势共分为 7 组。第 3 组代谢物相对含量变化趋势包含的差异代谢物有 64 种,该组中差异代谢物在对照组与处理组中均有上升趋势,第 5 组中差异代谢物相对含量变化在对照组与处理组中均有下降趋势,包含的差异代谢物有 44 种。各组所含代谢物数量有异同,其中第 6 组所含的差异代谢物也有 64 种,与第 3 组相同,第 4 组所含差异代谢物最少,只有 8 种。

2.4 桃果实常温贮藏过程中差异代谢物鉴定

比较在各分组中代谢物定量信息的差异倍数变化,鉴定对照组中的 CK 0 d vs. CK 3 d、CK 3 d vs. CK 6 d,处理组中的 CK 0 d vs. NT 3 d、NT 3 d vs. NT 6 d 的差异代谢物,对上调前 10 位差异代谢物和下调前 10 位差异代谢物进行分析。由图 3 可见,在对照组 2 分组 CK 0 d vs. CK 3 d 与 CK 3 d vs. CK 6 d 上调前 10 位差异代谢物中共鉴定到 19 种代谢物,其中溶血磷脂酰胆碱 18:4 在对照组 2 分组中均是上调前 10 位差异代谢物。对照组 2 分组中下调前 10 位差异代谢物中共鉴定到 18 种,其中松柏醇、1-甲基腺嘌呤在 CK 0 d vs. CK 3 d 与 CK 3 d vs. CK 6 d 2 分组中均是下调前 10 位差异

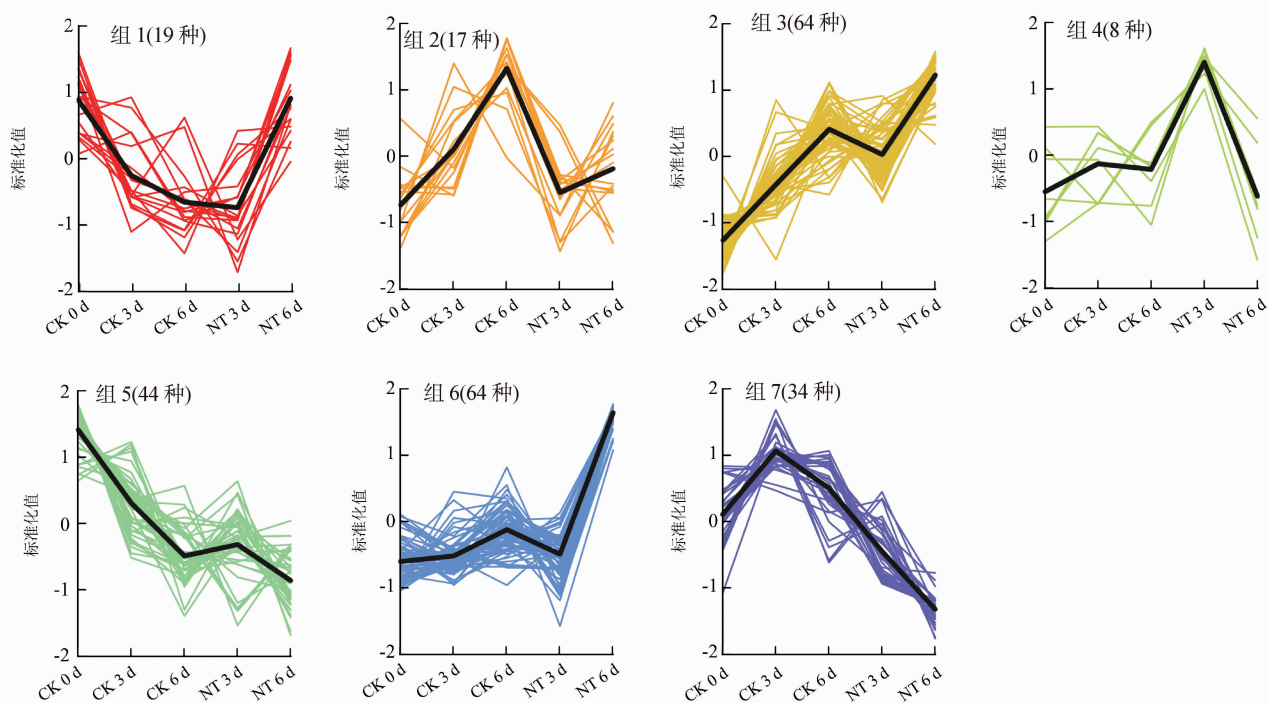


图2 差异代谢物 K 均值聚类分析

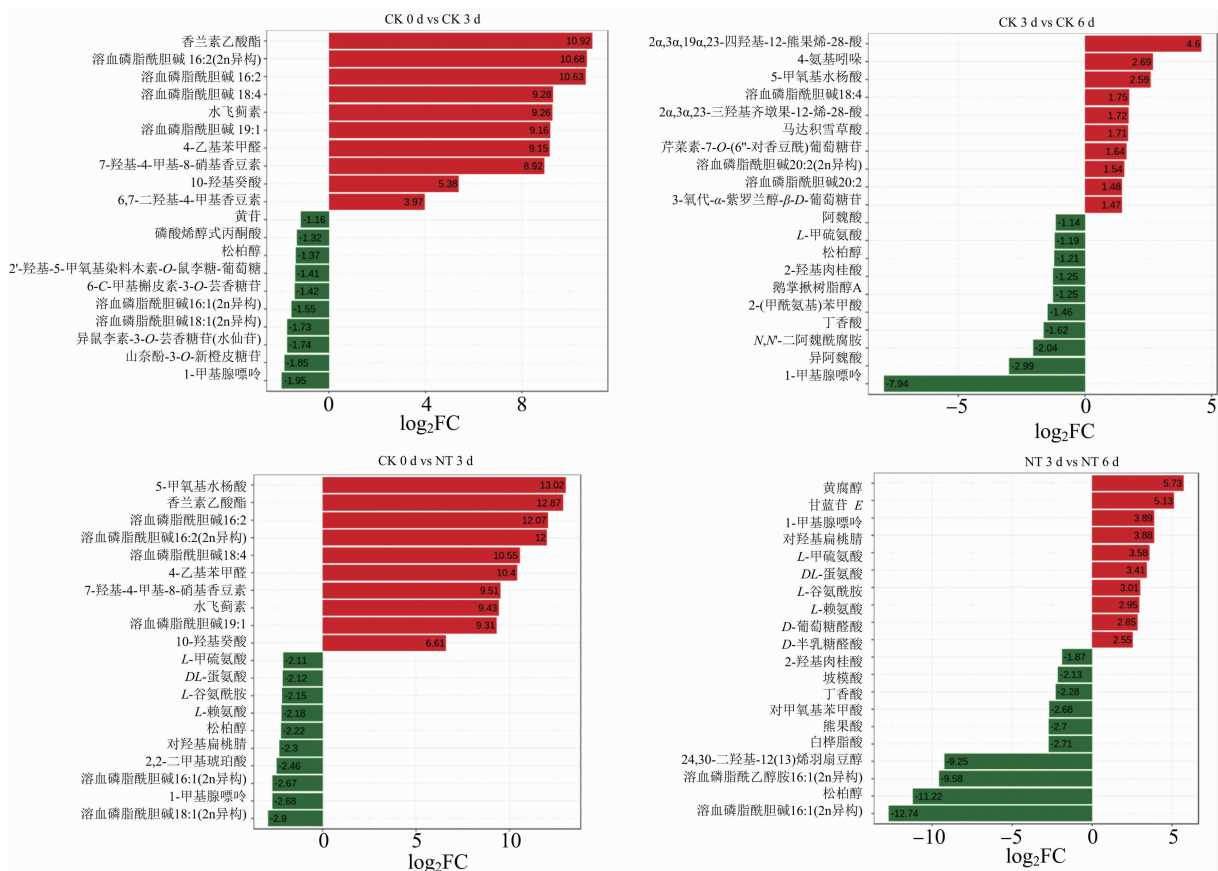


图3 差异代谢物差异倍数柱状图

代谢物。处理组 2 分组中共鉴定到上调代谢物 20 种,2 分组中上调前 10 位的差异代谢物均不相同。

处理组 2 分组中下调前 10 位差异代谢物中共鉴定到 18 种,其中松柏醇、溶血磷脂酰胆碱 16:1(2n 异

构)在处理组 CK 0 d vs. NT 3 d 与 NT 3 d vs. NT 6 d 中均是下调前 10 位的差异代谢物。

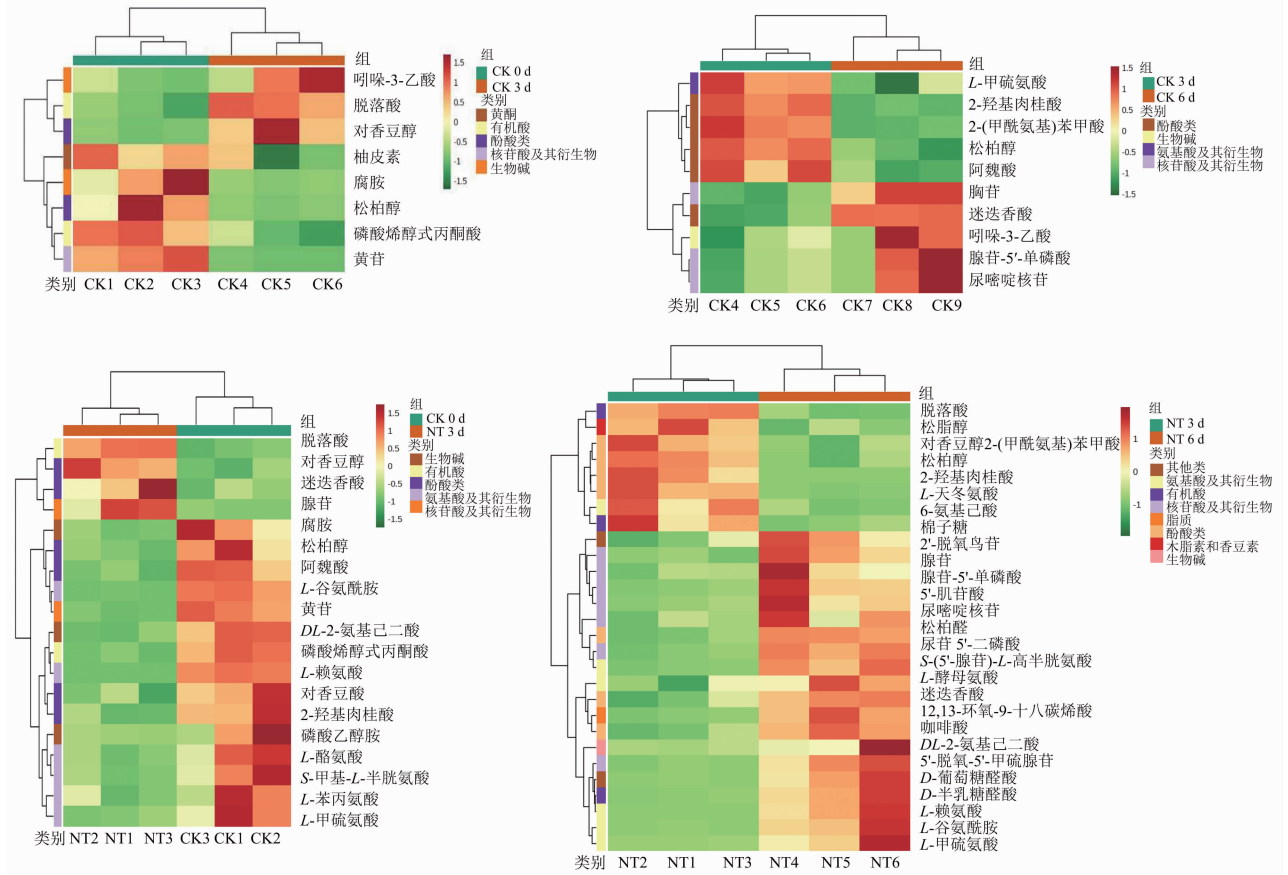
对照组 2 分组鉴定到的 19 种与处理组 2 分组鉴定到的 20 种上调前 10 位差异代谢物取交集,共鉴定到 10 种代谢物:香兰素乙酸酯、溶血磷脂酰胆碱 16 : 2 (2n 异构)、溶血磷脂酰胆碱 16 : 2、溶血磷脂酰胆碱 18 : 4、水飞蓟素、溶血磷脂酰胆碱 19 : 1、4 - 乙基苯甲醛、7 - 羟基 - 4 - 甲基 - 8 - 硝基香豆素、10 - 羟基癸酸、5 - 甲氧基水杨酸。对照组 2 分组(18 种)与处理组 2 分组(18 种)下调前 10 位差异代谢物取交集,共鉴定到 7 种代谢物:松柏醇、溶血磷脂酰胆碱 16 : 1 (2n 异构)、溶血磷脂酰胆碱 18 : 1 (2n 异构)、2 - 羟基肉桂酸、丁香酸、L - 甲硫氨酸、1 - 甲基腺嘌呤。鉴定到的代谢物信息见表 2。

2.5 KEGG 信号通路的差异代谢物聚类热图分析

KEGG 信号通路的差异代谢物聚类分析是根据差异代谢物的 KEGG 注释信息,选择至少含有 5 个差异代谢物的 KEGG 代谢通路,对所选的 KEGG 代谢通路中的差异代谢物的相对含量进行聚类分析,

挖掘重要代谢通路中的代谢物在不同分组中的特性。由 KEGG 信号通路的差异代谢物聚类分析(图 4),发现在对照组 2 分组 CK 0 d vs. CK 3 d 与 CK 3 d vs. CK 6 d 中共有上调代谢物 7 种,其中吲哚 - 3 - 乙酸同时在对组 2 分组中上调。在对照组 2 分组中下调的代谢物共鉴定到 9 种,其中松柏醇在 CK 0 d vs. CK 3 d 与 CK 3 d vs. CK 6 d 中均为下调。在处理组 2 分组中 CK 0 d vs. NT 3 d 与 NT 3 d vs. NT 6 d 的 KEGG 信号通路的差异代谢物聚类分析中上调代谢物共鉴定到 22 种,其中迷迭香酸、腺苷在处理组 2 个分组中均有上调趋势。处理组 2 分组中下调代谢物共鉴定到 21 种,其中松柏醇、2 - 羟基肉桂酸在处理组 2 分组 CK 0 d vs. NT 3 d 与 NT 3 d vs. NT 6 d 中均下调。

对照组 2 分组中的 7 种与处理组 2 分组中的 22 种有上调趋势代谢物取交集,共鉴定到 5 种代谢物:脱落酸、对香豆醇、迷迭香酸、腺苷 - 5' - 单磷酸、尿嘧啶核苷。对照组 2 分组(9 种)与处理组 2 分组(21 种)有下调趋势代谢物取交集,共鉴定到 8 种代



图中不同颜色代表差异代谢物相对含量归一化处理后得到的数值,反映其相对含量的高低,红色代表高含量,绿色代表低含量

图4 KEGG 信号通路的差异代谢物聚类分析

谢物:腐胺、松柏醇、磷酸烯醇式丙酮酸、黄苷、2-羟基肉桂酸、阿魏酸、L-甲硫氨酸、2-(甲酰氨基)苯甲酸。在KEGG信号通路的差异代谢物聚类分析中筛选得到的代谢物信息见表2。

表 2 参与桃果实衰老软化的候选代谢物

代谢物	类别	比较组			
		CK 0 d vs. CK 3 d	CK 3 d vs. CK 6 d	CK 0 d vs. NT 3 d	NT 3 d vs. NT 6 d
香兰素乙酸酯	其他	上调	不显著(0.999 7,1.41)	上调	不显著(1.50,0.75)
溶血磷脂酰胆碱 16:2(2n 异构)	脂质	上调	不显著(0.69,0.67)	上调	不显著(1.53,0.83)
溶血磷脂酰胆碱 16:2	脂质	上调	不显著(0.94,0.87)	上调	不显著(1.43,0.68)
溶血磷脂酰胆碱 18:4	脂质	上调	上调	上调	上调
水飞蓟素	黄酮	上调	上调	上调	上调
溶血磷脂酰胆碱 19:1	脂质	上调	不显著(1.43,0.85)	上调	上调
4-乙基苯甲醛	其他	上调	不显著(0.12,0.63)	上调	上调
7-羟基-4-甲基-8-硝基香豆素	木脂素和香豆素	上调	上调	上调	上调
10-羟基癸酸	脂质	上调	不显著(0.57,0.64)	上调	上调
5-甲氧基水杨酸	有机酸	不显著(0.84,9.77)	上调	上调	不显著(0.94,0.25)
松柏醇	酚酸类	下调	下调	下调	下调
溶血磷脂酰胆碱 16:1(2n 异构)	脂质	下调	下调	下调	下调
溶血磷脂酰胆碱 18:1(2n 异构)	脂质	下调	不显著(1.87,-0.77)	下调	不显著(1.48,-0.33)
丁香酸	酚酸类	不显著(1.11,-0.52)	下调	不显著(0.96,-0.47)	下调
1-甲基腺嘌呤	核苷酸及其衍生物	下调	下调	下调	上调
吡啶-3-乙酸	生物碱	上调	上调	不显著(1.12,0.73)	不显著(0.93,0.61)
腺苷	核苷酸及其衍生物	不显著(0.73,0.58)	不显著(1.16,0.94)	上调	上调
脱落酸	有机酸	上调	不显著(1.64,-0.30)	上调	下调
对香豆醇	酚酸类	上调	不显著(0.61,-0.25)	上调	下调
迷迭香酸	酚酸类	不显著(1.63,0.91)	上调	上调	上调
腺苷-5'-单磷酸	核苷酸及其衍生物	不显著(0.33,0.16)	上调	不显著(1.63,0.85)	上调
尿嘧啶核苷	核苷酸及其衍生物	不显著(1.38,-0.66)	上调	不显著(0.38,-0.10)	上调
腐胺	生物碱	下调	不显著(1.27,-0.18)	下调	不显著(1.07,-0.42)
磷酸烯醇式丙酮酸	有机酸	下调	不显著(1.46,-0.95)	下调	不显著(1.44,-0.85)
黄苷	核苷酸及其衍生物	下调	不显著(0.67,0.12)	下调	不显著(1.47,0.90)
2-羟基肉桂酸	酚酸类	不显著(0.57,-0.10)	下调	下调	下调
阿魏酸	酚酸类	不显著(1.63,-0.59)	下调	下调	不显著(0.95,-0.36)
L-甲硫氨酸	氨基酸及其衍生物	不显著(1.31,-0.86)	下调	下调	上调
2-(甲酰氨基)苯甲酸	酚酸类	不显著(1.05,0.18)	下调	不显著(1.62,-0.85)	下调

注:不显著(VIP,log<sub>2</sub>FC)。

本研究通过代谢物定量信息的差异倍数变化和KEGG信号通路的差异代谢物聚类分析共鉴定到可能参与桃果实软化的各种代谢物29种,其中脂质类和酚酸类各有7种,核苷酸及其衍生物有5种,有机酸类3种,生物碱2种,黄酮、木脂素和香豆素、氨基酸及其衍生物各1种,其他类2种(表2)。

3 讨论与结论

桃是世界上栽培最为广泛的落叶果树之一,我国桃产业在世界占有重要地位,近年来在栽培面积

和产量上一直占比超过全球50%。然而,桃作为典型的呼吸跃变型水果,成熟后极易软化,货架期较短,运输成本较高,损耗高<sup>[1]</sup>,给种植者和销售者带来较大的经济损失。桃果实衰老软化的调控仍是桃产业发展需要应对的问题,与种植者、生产者营收与产业发展都息息相关。开展桃果实衰老软化相关理论的研究能为降低桃果实采后损耗提供理论基础,对桃产业的持续健康发展有重要意义。

在所有的脂质中,磷脂的种类丰富,也是构成细胞膜最主要的脂类物质。本研究7种脂质相对含



量的变化,可能与桃果实衰老软化过程中细胞膜的分解有关。酚酸类物质是主要的多酚类物质之一。植物中的酚类物质被认为是重要的次生代谢物质之一。研究发现,酚类物质在植物抗病虫害、抗逆等多方面发挥作用<sup>[30]</sup>,同时在果实中也具有重要的抗氧化能力<sup>[31-32]</sup>。本研究筛选鉴定的 7 种酚酸类代谢物种,迷迭香酸随着桃果实贮藏软化过程有上调趋势,多数酚酸类物质[松柏醇、2-羟基肉桂酸、丁香酸、阿魏酸、2-(甲酰氨基)苯甲酸]在桃果实贮藏软化过程中有下调趋势,对香豆醇则无明显规律。朱辰晖等的研究表明,酚酸类物质能激活桃果实中多种抗氧化酶,能增强桃果实的抗氧化能力;使用对羟基肉桂酸,桃果实多酚对 DPPH· 和羟自由基清除能力得到加强,桃果实的成熟衰老得到延缓<sup>[33]</sup>。阿魏酸在柑橘抗氧化活性中被鉴定为主要作用物质之一<sup>[34]</sup>。因而这些酚酸类物质含量可能随着桃果实衰老软化进程逐渐减少,抗氧化活性减弱。吲哚-3-乙酸是常见的生长素类物质,在植物体内发挥着重要作用。Tatsuki 等研究发现,硬质桃在成熟后几乎不释放乙烯,且吲哚-3-乙酸含量极低,而普通桃有大量乙烯释放,吲哚-3-乙酸含量较高,表明乙烯的生物合成可能需要生长素介导<sup>[26]</sup>。硬质桃中 *PpACSI* 的表达量和乙烯释放量同时受 NAA 诱导增加,暗示吲哚-3-乙酸可介导乙烯合成<sup>[35]</sup>。腐胺是植物体内多胺的主要种类之一。研究表明,外源多胺处理可下调桃果实乙烯合成相关基因表达,上调多胺合成相关基因的表达,促进果实多胺合成并降低乙烯释放量和呼吸速率,延缓桃果实成熟衰老<sup>[36]</sup>。张海燕等使用外源腐胺处理油桃,促使油桃超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶的活性提高,同时乙烯释放量和呼吸释放速率下降,果实硬度下降延缓<sup>[37]</sup>。说明生物碱类物质吲哚-3-乙酸与腐胺在桃果实衰老软化过程中起到重要调控作用。研究表明,桃果实成熟过程中,内源脱落酸的积累构成了果实成熟的启动信号,而脱落酸高峰的出现启动了果实的后熟衰老进程<sup>[38]</sup>,本研究中脱落酸的相对含量变化趋势符合上述结果。有研究表明,在桃果实成熟软化过程中脱落酸可能也受到乙烯的调控,如乙烯可通过 *PpERF3* 调节脱落酸生物合成基因 *PpNCED2/3* 的表达从而促进其生物合成<sup>[39]</sup>。其他代谢物质在桃果实衰老软化进程中如何发挥作用还需要更深入的研究。本研究使用广泛靶向代谢组学方法分析鉴定了 29 种

代谢物质,可能参与桃果实软化的进程,将为桃果实衰老软化过程中的代谢物质研究提供参考。

#### 参考文献:

- [1] Yoshioka H, Hayama H, Tatsuki M, et al. Cell wall modification during development of mealy texture in the stony - hard peach "Odoroki" treated with propylene [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, 55 (1) : 1 - 7.
- [2] Brummell D A, Dal Cin V, Crisosto C H, et al. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55 (405) : 2029 - 2039.
- [3] Hayama H, Shimada T, Fujii H, et al. Ethylene - regulation of fruit softening and softening - related genes in peach [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57 (15) : 4071 - 4077.
- [4] Tucker G, Yin X R, Zhang A D, et al. Ethylene and fruit softening [J]. *Food Quality and Safety*, 2017, 1 (4) : 253 - 267.
- [5] Zhang Z Y, Wang N, Jiang S H, et al. Analysis of the xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase gene family during apple fruit ripening and softening [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65 (2) : 429 - 434.
- [6] Iqbal N, Khan N A, Ferrante A, et al. Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 475.
- [7] 阙娟, 刘俊, 金昌海. 桃果实成熟软化与细胞壁降解相关糖苷酶及乙烯生物合成的关系 [J]. *中国农业科学*, 2012, 45 (14) : 2931 - 2938.
- [8] 徐小迪, 李博强, 秦国政, 等. 果实采后品质维持的分子基础与调控技术研究进展 [J]. *园艺学报*, 2020, 47 (8) : 1595 - 1609.
- [9] Xu H Y, Chen Y Y, Wang L B, et al. Transcriptome analysis reveals a regulation of ethylene - induced post - harvest senescence in pear fruit [J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 240: 585 - 591.
- [10] Qian M, Zhang Y K, Yan X Y, et al. Identification and expression analysis of polygalacturonase family members during peach fruit softening [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17 (11) : 1933.
- [11] Wang X B, Zeng W F, Ding Y F, et al. Peach ethylene response factor *PpeERF2* represses the expression of ABA biosynthesis and cell wall degradation genes during fruit ripening [J]. *Plant Science*, 2019, 283: 116 - 126.
- [12] Smith D L, Abbott J A, Gross K C. Down - regulation of tomato beta - galactosidase 4 results in decreased fruit softening [J]. *Plant Physiology*, 2002, 129 (4) : 1755 - 1762.
- [13] Guo S L, Song J, Zhang B B, et al. Genome - wide identification and expression analysis of beta - galactosidase family members during fruit softening of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2018, 136: 111 - 123.
- [14] Liu H K, Qian M, Song C H, et al. Down - regulation of *PpBGAL10* and *PpBGAL16* delays fruit softening in peach by reducing polygalacturonase and pectin methylesterase activity [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1015.
- [15] Gu C, Guo Z H, Cheng H Y, et al. A HD - ZIP II HOMEBOX

- transcription factor, *PpHB. G7*, mediates ethylene biosynthesis during fruit ripening in peach[J]. *Plant Science*, 2019, 278: 12 – 19.
- [16] Tadiello A, Ziosi V, Negri A S, et al. On the role of ethylene, auxin and a GOLVEN – like peptide hormone in the regulation of peach ripening[J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16: 44.
- [17] Wang X B, Pan L, Wang Y, et al. *PpIAA1* and *PpERF4* form a positive feedback loop to regulate peach fruit ripening by integrating auxin and ethylene signals[J]. *Plant Science*, 2021, 313: 111084.
- [18] Chen X M, Liu Y D, Zhang X, et al. *PpARF6* acts as an integrator of auxin and ethylene signaling to promote fruit ripening in peach[J]. *Horticulture Research*, 2023, 10(9): uhad158.
- [19] Sawada Y, Akiyama K, Sakata A, et al. Widely targeted metabolomics based on large – scale MS/MS data for elucidating metabolite accumulation patterns in plants [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2009, 50(1): 37 – 47.
- [20] Chen W, Gong L, Guo Z L, et al. A novel integrated method for large – scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics [J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(6): 1769 – 1780.
- [21] 闫乐乐, 卜璐璐, 牛 良, 等. 广泛靶向代谢组学解析桃蚜危害对桃树次生代谢产物的影响[J]. *中国农业科学*, 2022, 55(6): 1149 – 1158.
- [22] 刘苏宁, 王力荣, 方伟超, 等. 基于广泛靶向代谢组学的桃芽抗寒代谢物的筛选与鉴定[J]. *果树学报*, 2023, 40(1): 1 – 12.
- [23] 生弘杰, 卢素文, 郑喧昂, 等. 基于广泛靶向代谢组学的葡萄种子代谢物鉴定与比较分析[J]. *中国农业科学*, 2023, 56(7): 1359 – 1376.
- [24] 石 飞, 邢玉青, 李志刚, 等. 基于广泛靶向代谢组学的冷藏冬枣成分分析[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(4): 324 – 333.
- [25] Fan F Y, Huang C S, Tong Y L, et al. Widely targeted metabolomics analysis of white peony teas with different storage time and association with sensory attributes [J]. *Food Chemistry*, 2021, 362: 130257.
- [26] Tatsuki M, Nakajima N, Fujii H, et al. Increased levels of IAA are required for system 2 ethylene synthesis causing fruit softening in peach (*Prunus persica* L. Batsch) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(4): 1049 – 1059.
- [27] Fraga C G, Clowers B H, Moore R J, et al. Signature – discovery approach for sample matching of a nerve – agent precursor using liquid chromatography – mass spectrometry, XCMS, and chemometrics [J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(10): 4165 – 4173.
- [28] Thévenot E A, Roux A, Xu Y, et al. Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS statistical analyses [J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, 14(8): 3322 – 3335.
- [29] Ogata H, Goto S, Sato K, et al. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27(1): 29 – 34.
- [30] 蔡志翔, 严 娟, 宿子文, 等. 不同类型桃种质资源主要酚类物质含量评价[J]. *园艺学报*, 2022, 49(5): 1008 – 1022.
- [31] Liu H, Jiang W B, Cao J K, et al. Evaluation of antioxidant properties of extractable and nonextractable polyphenols in peel and flesh tissue of different peach varieties [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018, 42(6): e13624.
- [32] 卢娟芳, 刘盛雨, 芦 旺, 等. 不同类型桃果肉酚类物质及抗氧化活性分析[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(16): 3205 – 3214.
- [33] 朱辰晖, 吴 昊, 施文卫, 等. 对羟基肉桂酸(P – CA)处理对桃果实采后保鲜效果研究[J]. *食品科技*, 2022, 47(5): 62 – 68.
- [34] Xi W P, Zhang Y M, Sun Y J, et al. Phenolic composition of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata* Balnco.) pulps and their antioxidant properties [J]. *Industrial Crops and Products*, 2014, 52: 466 – 474.
- [35] Pan L, Zeng W F, Niu L, et al. *PpYUC11*, a strong candidate gene for the stony hard phenotype in peach (*Prunus persica* L. Batsch), participates in IAA biosynthesis during fruit ripening [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(22): 7031 – 7044.
- [36] 汪开拓, 雷长毅, 韦盼盼, 等. 亚精胺处理对桃果实贮藏品质及内源乙烯和多胺代谢的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(10): 92 – 99, 117.
- [37] 张海燕, 饶景萍, 戴斯琴, 等. 外源腐胺对油桃采后生理及与其相关酶活性的影响 [J]. *植物生理学通讯*, 2007, 43(6): 1061 – 1064.
- [38] 曹永庆, 冷 平, 潘 烜, 等. 脱落酸在桃果实成熟过程中的作用 [J]. *园艺学报*, 2009, 36(7): 1037 – 1042.
- [39] Wang X B, Zeng W F, Ding Y F, et al. *PpERF3* positively regulates ABA biosynthesis by activating *PpNCED2/3* transcription during fruit ripening in peach [J]. *Horticulture Research*, 2019, 6: 19.