



不同抗逆性菠萝品种的差异基因和 差异代谢物分析

刘传和, 贺 涵, 邵雪花, 赖 多, 匡石滋, 肖维强

(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, 广州 510640)

摘 要: 该研究对 2 个不同抗逆性的菠萝品种 PZ2(抗逆性较差)和 PZ3(抗逆性强)进行转录组和代谢组比较分析, 以探索品种间抗逆性差异的分子生理机制, 为菠萝抗性育种提供理论依据。(1)转录组结果显示, 以 PZ2 为对照, 在 2 个品种间共筛选到 1 667 个差异表达基因, 上调和下调的差异表达基因分别为 770 个和 897 个; 其中筛选到 20 个与抗逆性相关的差异表达基因, 包括 *WRKY* 和 *MYB* 转录因子基因以及 *ASR3*、*SOD1*、*POD48*、*HSP20*、*GSTF1*、*GSTU17* 等基因。(2)代谢组分析表明, 以 PZ2 为对照, 在 2 个品种间共筛选到 208 个差异代谢物, 含量上调和下调的差异代谢物分别为 98 个和 110 个, 其中 22 种差异代谢物与抗逆性相关, 包括氨基酸及其衍生物、脂类、黄酮类、糖类和糖苷等。(3)qRT-PCR 分析验证表明, 所选的 8 个差异表达基因在菠萝品种 PZ2 与 PZ3 中的差异表达趋势与转录组测序中差异基因表达水平变化趋势基本一致。(4)关联分析表明, 差异表达基因和差异代谢物共同富集的通路有类黄酮生物合成, 苯丙素生物合成, 萜烷烷、嘧啶和吡啶丙酸盐生物合成, 半胱氨酸与蛋氨酸代谢等 4 条。研究发现, 抗逆性强的菠萝品种的非生物逆境反应相关基因、抗氧化酶基因、逆境响应结构基因和调控基因的表达水平高于抗逆性较差的品种, 且黄酮类、氨基酸衍生物类及木脂素、脂质等代谢物的含量也高于抗逆性较差的品种。

关键词: 菠萝; 不同品种; 差异表达基因; 差异代谢物

中图分类号: Q789; S668.3 **文献标志码:** A

Diversity Analysis of Differential Expressed Genes and Differential Metabolites between Two Pineapple Cultivars with Different Stress Resistance

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

(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 Provincial Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fruit Tree Research, Guangzhou 510640, China)

Abstract: To investigate the molecular and physiological mechanisms associated with resistance diversity of different pineapple varieties, we utilized the two cultivars, PZ2 and PZ3 with differential stress-resistance in this work to comparatively analyze the transcriptome and metabolome. (1) The transcriptome sequencing results showed that a total of 1 667 differential expressed genes were detected in PZ2 and PZ3 compar-

收稿日期: 2022-04-14; **修改稿收到日期:** 2022-07-21

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFD1001100); 乡村振兴战略专项资金(403-2018-XMZC-0002-90, TS-3-1); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金(2021KJ109, 2022KJ109); 广东省农业科学院菠萝产业研究院项目; 广东省农村科技特派员项目(KTP20210395)

作者简介: 刘传和(1976—), 男, 博士, 研究员, 主要从事菠萝优质高效种植技术与新品种选育研究。E-mail: founderlch@126.com

ison group. In PZ3, 770 and 897 differential expressed genes were found to be up- and down-regulated when compared with PZ2, respectively, and 20 differential expressed genes were involved in adversity resistance, including *ASR3*, *SOD1*, *POD48*, *HSP20*, *GSTF1*, *GSTU17*, as well as *WRKY* and *MYB* transcription factor genes. (2) Metabolomics analysis indicated that a total of 208 differential metabolites were identified in PZ2 and PZ3 comparison group, 98 and 110 of those were up-and down-regulated in contents in PZ3 when compared with PZ2, respectively. Totally, 22 differential metabolites were found to be associated with adversity resistance, including amino acids and derivatives, lipids, flavanols, carbohydrates and glycosides. (3) It showed that the expression profiles of the eight genes revealed by qPCR were consistent with the corresponding RPKM values derived from RNA-seq. (4) The correlation analysis showed that the pathways for co-enrichment of differentially expressed genes and differential metabolites included flavonoid biosynthesis, phenylpropanoid biosynthesis, tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis, and cysteine and methionine metabolism. It was found that the expression levels of abiotic stress responsive genes, antioxidant enzyme genes, as well as structure and regulatory genes response to stress, were higher in the pineapple cultivar with strong stress resistance than those of the cultivar with stress-poor resistance. Also, the contents of flavonoids, amino acids and derivatives, as well as lignans and lipids metabolites were higher than those of cultivar with stress-poor resistance. The data of this work would contribute to provide references for the comparative analysis of mechanism of pineapple varieties related to different resistance and to provide a theoretical basis for pineapple resistance breeding.

Key words: pineapple; different cultivars; differential expressed genes; differential metabolites

菠萝[*Ananas comosus* (L.) Merr.]又称凤梨, 属凤梨科(Bromeliaceae)凤梨属(*Ananas*)多年生草本作物,是著名的热带水果,在中国广东、广西和海南等地有较大面积种植。菠萝果实中含有丰富的维生素、碳水化合物和有机酸,叶片具有抗肿瘤、降血糖、调血脂等功效;菠萝果实既可以鲜食又可加工成饮品、果酱和水果罐头,深受消费者喜爱^[1-2]。

中国菠萝品种结构极为单一。20 世纪 50 年代至今,中国菠萝主栽品种仍是‘巴厘’和‘无刺卡因’,其中‘巴厘’品种的种植面积占了中国种植面积的 80%。通过杂交和芽变选种选育出具有良好鲜食特性和较好抗逆性的新品种是菠萝的主要育种目标之一^[3-4]。‘粤甜’是由‘无刺卡因’与‘神湾’为亲本通过杂交选育的菠萝新品种。‘粤甜’在植株外观形态方面与‘神湾’较为接近,但‘粤甜’菠萝果实比‘神湾’稍大。经过多年生产种植表明,‘粤甜’菠萝的品质与抗逆性均明显优于‘神湾’。

有关菠萝抗逆性,多从表型进行研究。马帅鹏等^[5]根据寒害等级对 4 个菠萝品种‘金菠萝’(MD-2)、“黄金菠萝”、“巴厘”、“无刺卡因”进行了寒害调查,比较了不同菠萝品种的抗寒性差异。Shu 等^[6]以耐冷品种 MD-2 和冷敏感品种‘台农 17’为材料,寻找和筛选了耐冷基因同源序列附近的 SSR 位点,对所收集的种质进行耐冷性鉴定分类。近年来随着转录组、代谢组等测序技术的使用,为农作物育种与深入研究新品种(系)优异性状形成的机理提供了方便。

转录组与代谢组联合分析已广泛应用于水稻^[7]、玉米^[8]、辣椒^[9]、火龙果^[10]等作物不同生长发育时期和逆境胁迫下差异表达基因、差异代谢物的筛选与鉴定等相关研究,也逐渐成为果树遗传育种中相关分子机理和代谢途径研究的重要手段^[11]。本研究基于转录组和代谢组结果对‘神湾’和‘粤甜’两个具有抗逆性差异的菠萝品种间差异表达基因和差异代谢物进行了分析,旨在探明‘粤甜’菠萝抗逆性形成的分子生理基础,为菠萝抗逆性相关分子机理和抗性育种提供参考,也有利于加快菠萝抗性育种进程。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验在广东省农业科学院果树研究所菠萝试验示范基地进行。供试品种‘神湾’(PZ2)和‘粤甜’(PZ3),PZ2 为对照。每个品种种植 3 个小区,随机排列。每个小区长 6 m,宽 1 m,株、行距为 30 cm×40 cm。2020 年 4 月,在每个小区中选择长势一致的菠萝植株 3 棵,每棵选取 3 片中部叶片,摘取叶片中间部位 5 cm 长作为取样部位。每个小区植株上取的叶片混合为 1 个样品,3 个小区即为 3 次重复。取样后立即置于液氮中速冻,2 h 后在-70 ℃超低温冰箱中暂存,用于转录组和代谢组分析。

1.2 转录组分析

1.2.1 总 RNA 提取与转录组测序 总 RNA 提取及转录组测序委托百迈客生物科技有限公司完成,3

次生物学重复。采用天根 DP441(RNAprep Pure Plant Kit,Polysaccharides & Polyphenolics-rich)试剂盒进行总 RNA 提取,检测合格后,用带有 Oligo (dT)的磁珠富集真核生物 mRNA,加入裂解缓冲液(Fragmentation Buffer)将 mRNA 随机打断,以 mRNA 为模板,用 6 碱基随机引物(random hexamers)合成第一条 cDNA 链,然后加入缓冲液、dNTPs、RNase H 和 DNA 聚合酶 I 合成第二条 cDNA 链,并利用 AMPure XP beads 纯化 cDNA。将纯化的双链 cDNA 进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头,用 AMPure XP beads 进行片段大小选择,通过 PCR 富集得到 cDNA 文库。文库构建完成后,通过 qRT-PCR 方法对文库有效浓度(文库有效浓度>2 nmol/L)进行准确定量,以保证文库质量。库检合格后,不同文库按照目标下机数据量进行混池,并使用 Illumina 平台进行测序。

1.2.2 差异表达基因筛选与分析 采用 DESeq2^[12] 进行基因差异表达分析。将差异显著性 P 值校正后得到的错误发现率(false discovery rate,FDR)与差异倍数(fold change,FC)相结合的方法进行差异表达基因筛选,筛选标准为 $FC \geq 2$ 且 $FDR < 0.01$ 。

1.2.3 部分差异表达基因 qRT-PCR 验证 选择 8 个差异表达基因和内参基因 *Actin* 进行 qRT-PCR 表达分析,用 Primer Premier 5.0 软件设计引物(表 1),用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算基因表达水平。用 Excel 2007 将 qRT-PCR 结果与 RNA-seq 测定的 FPKM^[13] 比较作图。

1.3 代谢物提取与分析

1.3.1 代谢物提取 利用研磨仪(MM 400, Retsch)将真空冷冻干燥的样品研磨(30 Hz,1.5

min)至粉末状,称取 100 mg 粉末,溶解于 0.6 mL 提取液中,4 ℃ 冰箱过夜,期间涡旋 6 次以提高提取率。离心(转速 10 000 g,10 min)后,吸取上清,用微孔滤膜(0.22 μm)过滤,并保存于进样瓶,用于 UPLC-MS/MS 分析。

1.3.2 色谱条件 色谱柱为 Agilent SB-C18 1.8 μm,2.1 mm×100 mm;流动相 A 为超纯水(加入 0.1%的甲酸),B 为乙腈。洗脱梯度为 B 相比比例为 5%,9 min 内 B 相比比例线性增加到 95%,并维持在 95% 1 min,10~11.1 min B 相比比例降为 5%,并以 5%平衡至 14 min,流速 0.35 mL/min,柱温 40 ℃,进样量 4 μL。

1.3.3 质谱条件 电喷雾离子源(electrospray ionization,ESI)温度 550 ℃,质谱电压 5 500 V,帘气(curtain gas,CUR)30 psi,碰撞诱导电离(collission-activated dissociation,CAD)参数设置为高。

1.3.4 差异代谢物筛选与分析 基于 UPLC-MS/MS 检测平台、百迈客公司自建数据库以及多元统计分析相结合对代谢组进行分析。通过主成分分析(principal component analysis,PCA)样品总体代谢差异和组内变异程度。采用 R(3.3.2)包 ropls 对代谢物进行正交偏最小二乘模型识别分析(orthogonal projections to latent structures-discriminant analysis,OPLS-DA)。将差异倍数、t 检验的 P 值和 OPLS-DA 模型的变量投影重要度(variable importance in the projection,VIP)值相结合筛选差异代谢物;筛选标准为 $FC > 1.50$ 、 $P < 0.05$ 和 $VIP > 1$ 。将筛选得到的差异代谢物与差异表达基因进行关联分析。

表 1 qRT-PCR 分析基因及引物
Table1 The qRT-PCR primer sequences for the genes

基因 ID Genes ID	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer	退火温度 Tm/℃
<i>Actin</i>	CTGGCCTACGTGGCACTTGACTT	CACTTCTGGGCAGCGGAACCTTT	60
LOC109705329	GCTCACATTGTCTCGCTCAAACCTTG	TCTCACATTGGCAAGCATCGTCTC	60
LOC109704375	CACCGCAAGATCCTTCTCCAACAG	CCACCAGAGCAAGAGGCAAACC	60
LOC109721892	CGGAATCGTGACTAAGGACCTGAAC	CCGAAGCCGCTCATCTTGTATCC	60
LOC109720819	TCCCTAAACTCGGTGCTCCTCTG	GCTCCATCATCGCCACCATGTC	60
LOC109726005	CCCTCTCCTCTCCCTCTCCTC	AGCTTCACCCTCACCTTCATCCTC	60
LOC109705050	GCTCCTCCTCAAATCCAATCCAGTG	CAGTTCCGGCCCAAACCTTCGTC	60
LOC109703989	ATCCGAATTGAACGACGAAGAAG	GGAGGAGCAGAGGAAGCAGAGG	60
LOC109720393	CATTAGCCACGATTCCAGGTGTCAG	TTGTGATGGTGGAGGCACTTGAAC	60

2 结果与分析

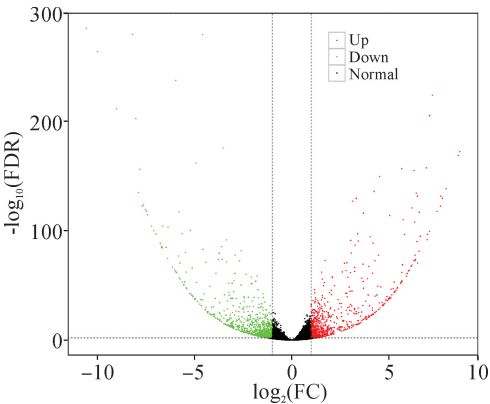
2.1 差异表达基因分析

2.1.1 差异表达基因数据统计 对 PZ2 和 PZ3 间差异表达基因分析,将 $FC \geq 2$ 且 $FDR < 0.01$ 作为筛选标准,共筛选得到差异表达基因 1 667 个,其中上调的为 770 个,下调的为 897 个,其差异表达见图 1。

2.1.2 差异表达基因筛选 在 PZ2 与 PZ3 比较中,筛选出 20 个与抗逆性相关差异表达基因(表 2),包括超氧化物歧化酶 SOD1、过氧化物酶 POD48 等酶基因,抗病蛋白 RPP13、抗病蛋白 RPP8 和脱落酸胁迫诱导成熟蛋白 ASR3 等抗性相关蛋白基因,以及 MYB、WRKY 等转录因子基因。PZ3 中 SOD1、POD48、POD31、ALDH2、TR、GSTU17 等 9 个酶基因的表达是 PZ2 的 1.09~3.10 倍。抗病蛋白 RPP13-like、硝酸盐转运蛋白 NRT1/PTR FAMILY 5.10-like、核糖体蛋白 L38-like 等蛋白基因在 PZ3 中的表达是 PZ2 的 1.08~6.97 倍。MYB、WRKY 等转

录因子基因在 PZ3 中的表达是 PZ2 的 1.20~1.84 倍。

2.1.3 部分差异表达基因 qRT-PCR 验证 图 2 所示为部分差异表达基因的 qRT-PCR 验证。结果表



Up. 上调基因;Down. 下调基因;Normal. 无差异基因
图 1 差异表达基因火山图
Up. Up expressed gene;Down. Down expressed gene;
Normal. Unchanged expression gene

Fig. 1 Volcano plot of differential expressed genes

表 2 关键差异表达基因的筛选
Table 2 The key differential expressed genes screened

基因 ID Gene ID	基因注释 Gene annotation	差异倍数 log ₂ FC
LOC109724405	超氧化物歧化酶(SOD1) Superoxide dismutase	1.41
LOC109717384	过氧化物酶(POD48) Peroxidase 48	3.10
LOC109726005	过氧化物酶(POD31) Peroxidase 31-like	1.10
LOC109721892	乙醛脱氢酶(ALDH2) Aldehyde dehydrogenase family 2 member C4-like	1.05
LOC109705857	托品酮还原酶(TR) Tropinone reductase	1.09
LOC109720819	4-香豆酸-辅酶 A 连接酶 3(4CL3) 4-coumarate-CoA ligase 3	1.28
LOC109706842	1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶(ACO) 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 2-like	1.09
LOC109727752	谷胱甘肽 S-转移酶(GSTF1) Glutathione S-transferase	1.81
LOC109705050	谷胱甘肽 S-转移酶(GSTU17) Glutathione S-transferase U17-like	1.11
LOC109704375	抗病蛋白 Disease resistance protein RPP13-like	4.47
LOC109705329	抗病蛋白 Disease resistance RPP8-like protein 2	6.97
LOC109705911	硝酸盐转运蛋白 Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.10-like	3.69
LOC109705505	核糖体蛋白 Ribosomal protein L38-like	5.66
LOC109705957	脱落酸胁迫诱导成熟蛋白(ASR3) Absciscic stress-ripening protein	1.02
LOC109715638	热激蛋白(HSP20) Heat shock protein	4.19
LOC109704830	热激转录因子(HSFB2B) Heat shock transcription factor	1.08
LOC109703989	WRKY 转录因子(WRKY26)	1.20
LOC109720393	含有结构域蛋白的 MYB 转录因子 L10-interacting MYB domain-containing protein-like (LIMYB)	1.55
LOC109727968	MYB 转录因子 MYB	1.73
LOC109722005	MYB 转录因子 MYB-like	1.84

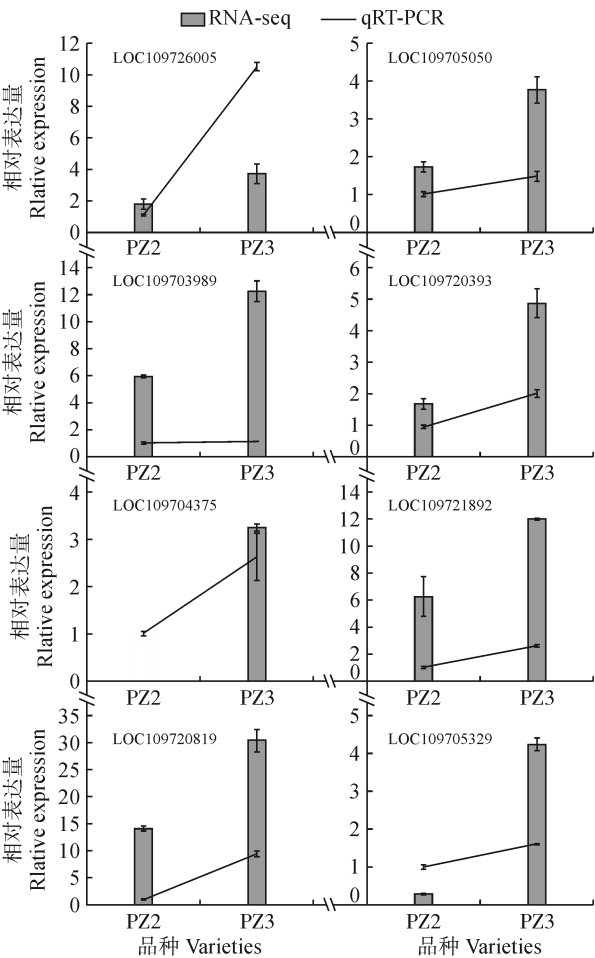


图2 差异表达基因 qRT-PCR 验证
Fig. 2 Validation of differential expressed genes by qRT-PCR

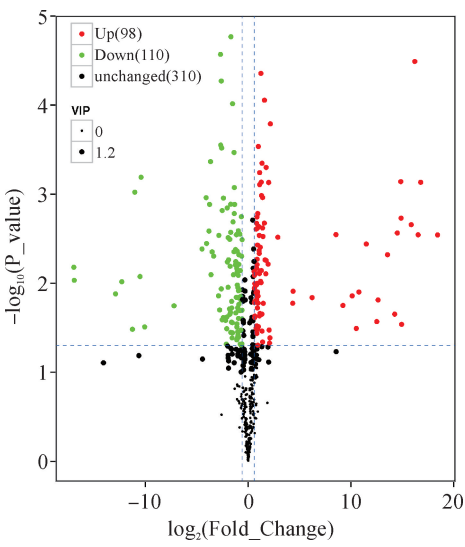
明,8 个差异表达基因(LOC109726005、LOC109705050、LOC109703989、LOC109720393、LOC109704375、LOC109720819、LOC109721892、LOC109705329)在 PZ2 与 PZ3 中的差异表达趋势与转录组测序中差异基因表达水平变化趋势基本一致。

2.2 差异代谢物分析

2.2.1 差异代谢物火山图分析 以 $FC>1.50$ 、 $P<0.05$ 和 $VIP>1$ 为筛选标准,在 PZ2 和 PZ3 样本间共筛选到 208 个差异代谢物,其中,与 PZ2 相比,PZ3 中有 98 个上调,110 个下调(图 3)。

2.2.2 差异代谢物的筛选 在 PZ2 和 PZ3 比较组间共筛选到 22 种与抗逆性显著相关的差异代谢物,包括 16 种黄酮类物质,3 种氨基酸及其衍生物,2 种脂类和 1 种木脂素(表 3)。

与 PZ2 相比,16 种黄酮类代谢物在 PZ3 中的含量上调了 6.22~18.43 倍。3 种氨基酸及其衍生物 L-脯氨酸、顺式-4-羟基-D-脯氨酸、甲基槲皮素谷氨酸在 PZ3 中的含量分别较 PZ2 提高了 1.30 倍、1.10



Up. 上调代谢物;Down. 下调代谢物;Unchanged. 无变化代谢物
图3 差异代谢物火山图

Up. Metabolite content was up-regulated;
Down. Metabolite content was down-regulated;
Unchanged. Metabolite content was unchanged

Fig. 3 Volcano plot of differential metabolites

倍和 16.54 倍。木质素代谢物松脂醇-乙酰葡萄糖在 PZ3 中的含量较 PZ2 上调了 10.52 倍,脂质类代谢物 4-氧代-9Z,11Z,13E,15E-十八碳四烯酸、溶血磷脂酰胆碱分别较 PZ2 上调了 1.40 倍和 1.57 倍。

2.3 差异表达基因和差异代谢物关联分析

通过对 PZ2 和 PZ3 差异表达基因和差异代谢物进行关联分析发现,共有 4 条共同富集的通路(表 4),分别为类黄酮生物合成,苯丙素生物合成,萜烷、嘧啶和吡啶丙酸盐生物合成,半胱氨酸与蛋氨酸代谢。代谢组与转录组联合分析表明,类黄酮生物合成途径中的差异表达基因与差异代谢产物圣草酚、表没食子儿茶素的合成密切相关。苯丙素生物合成途径中过氧化物酶基因、乙醛脱氢酶基因、莽草酸-O-邻羟基肉桂酰转移酶基因、4-香豆酸-辅酶 A 连接酶基因与与差异代谢产物亚精胺和苯丙氨酸的合成密切相关。关联结果表明,过氧化物酶基因上调,亚精胺含量升高,呈正相关;半胱氨酸与蛋氨酸代谢途径中的差异表达基因 1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶与差异代谢产物 L-蛋氨酸、L-类胱氨酸和 5'-脱氧-5'-(甲硫基)腺苷的合成密切相关,基因上调,差异代谢产物含量升高,呈正相关。

3 讨论

转录组分析表明,与 PZ2 相比较,在抗逆性较强品种 PZ3 中筛选到 1 667 个差异表达基因,其中

表 3 关键差异代谢物的筛选

Table 3 The key differential metabolites screened

分类 Classification	代谢物序号 Metabolite ID	化合物名称 Name of compound	差异倍数 log ₂ FC	VIP
黄酮 Flavonoids	mws0036	橙皮甙 Hesperidin	6.22	1.2470
	mws1066	芸香柚皮苷 Naringenin-7-O-Rutinoside(Narirutin)	14.51	1.2763
	mws1661	香叶木素 Diosmin	15.86	1.2777
	pmb3041	麦黄酮-O-蔗糖酸 Tricin O-saccharic acid	12.51	1.2169
	pmp001080	新地奥明(香叶木素-7-新橙皮糖甙) Neodiosmin (Diosmetin-7-O-Neohesperidoside)	14.85	1.2815
	pmb0624	6-C-己基木犀草素邻己糖苷 6-C-Hexosyl-luteolin O-hexoside	14.26	1.2282
	pmp001314	6-羟基山奈酚-3-O-芦丁-6-O-葡萄糖苷 6-Hydroxykaempferol-3-O-rutin-6-O-glucoside	13.56	1.2711
	pmn001583	槲皮素-3-O-洋槐糖苷 Quercetin-3-O-robinobioside	18.43	1.2759
	pmb3002	金圣草黄素-7-O-芸香糖苷 Chrysoeriol-7-O-rutinoside	16.21	1.2832
	Hmgp003086	麦黄酮-O-芸香糖苷 Tricin-O-rutinoside	12.64	1.2445
	pme0368	芹菜素 7-芸香糖苷(异野漆树苷) Apigenin 7-rutinoside(Isorhoifolin)	10.78	1.2518
	pme1605	山奈酚-3-O-洋槐糖苷 Kaempferol-3-O-robinobioside	16.79	1.2815
	pmp000594	香叶木素-7-O-芸香糖苷 Diosmetin-7-O-rutinoside	14.88	1.2786
	Hmpp003242	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 Isorhamnetin-3-O-glucoside	14.93	1.2118
	mws0042	表没食子儿茶素 Epigallocatechin	11.49	1.2741
氨基酸及其 衍生物 Amino acids and derivatives	pmb2586	没食子儿茶素 Gallocatechin-catechin	10.12	1.2486
	pme0006	L-脯氨酸 L-proline	1.30	1.2566
	mws1570	顺式-4-羟基-D-脯氨酸 Cis-4-Hydroxy-D-proline	1.10	1.1929
	Lmmp002963	甲基槲皮素谷氨酸 Methylquercetin glu-rha	16.54	1.2760
木脂素 Lignans	Rfmb25702	松脂醇-乙酰葡萄糖 Pinoresinol-acetylglucose	10.52	1.2043
脂质 Lipids	pmb0885	4-氧代-9Z,11Z,13E,15E-十八碳四烯酸 4-oxo-9Z,11Z,13E,15E-octadecatetraenoic acid	1.40	1.2394
	pmp001281	溶血磷脂酰胆碱 LysoPC 18:1	1.57	1.2540

表 4 差异表达基因和差异代谢物关联分析

Table 4 The correlation analysis of differential expressed genes and differential metabolites

通路 Pathway	差异表达基因 Differential expressed gene		差异代谢物 Differential metabolite	
	名称 Name	差异倍数 Gene_log ₂ FC	名称 Name	差异倍数 Metabolite_log ₂ FC
类黄酮生物合成 Flavonoid Biosynthesis	莽草酸-O-邻羟基肉桂酰转移酶 Shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase	1.17	圣草酚 Eriodictyol	1.59
	1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 2-like	1.17	表没食子儿茶素 Epigallocatechin	11.49
苯丙素生物合成 Phenylpropanoid Biosynthesis	过氧化物酶 Peroxidase	1.10	亚精胺 Spermidine	1.03
	乙醛脱氢酶 Aldehyde dehydrogenase	1.58	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	0.87
	莽草酸-O-邻羟基肉桂酰转移酶 Shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase	1.17	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	0.87
	4-香豆酸-辅酶 A 连接酶 3 4-coumarate-CoA ligase 3	1.28	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	0.87
苜蓿烷,哌啶和吡啶 生物碱生物合成 Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	托品酮还原酶 Tropinone reductase	1.09	哌啶 Piperidine	1.11
	托品酮还原酶 Tropinone reductase	1.09	L-异亮氨酸 L-Isoleucine	1.12
	托品酮还原酶 Tropinone reductase	1.09	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	0.87
半胱氨酸与 蛋氨酸代谢 Cysteine and methionine metabolism	1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 2-like	1.09	L-蛋氨酸 L-Methionine	1.24
	1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 2-like	1.09	5'-脱氧-5'-(甲硫基)腺苷 5'-Deoxy-5'-(methylthio)adenosine	0.59
	1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 2-like	1.09	L-类胱氨酸 L-Homocystine	1.71

770 个表达上调,897 个表达下调,表明抗逆性不同的菠萝品种在转录水平存在明显差异。

超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)是细胞膜系统损伤修复过程中的关键酶,在提高植株对逆境的适应性中发挥着积极作用,具有抗氧化活性,延缓衰老^[14]。本研究中,与 PZ2 相比较,PZ3 中 SOD1 和 POD48 等基因的表达量明显上调,抗逆性强品种通过产生活性氧消除相关酶与还原物质来消除非生物逆境胁迫,以减轻外界胁迫对植株的损伤。类似地,乙醛脱氢酶、托品酮还原酶、4-香豆酸-辅酶 A 连接酶、ACO、GSTF1、GSTU17 等酶基因在 PZ3 中的表达也明显高于 PZ2,有利于增强 PZ3 对逆境胁迫的抗性^[15-19]。而一些蛋白基因如抗病蛋白 RPP13-like、硝酸盐转运蛋白、核糖体蛋白、脱落酸胁迫诱导成熟蛋白、热激蛋白以及热激转录因子等基因也在 PZ3 中的表达高于 PZ2,能提高 PZ3 对逆境的适应性与抵抗力^[20-24]。WRKY 和 MYB 转录因子基因在调控植物生长发育及响应低温、干旱等逆境胁迫过程中发挥着重要的作用^[25-29],是响应非生物胁迫过程中的关键调控基因^[26-28]。本研究中抗逆性较强的品种中 WRKY26 和 MYB 的表达量高于抗逆性差的品种。

代谢组分析表明,在 PZ2 和 PZ3 比较组中筛选到 208 个差异代谢物,PZ2 和 PZ3 差异代谢物在氨基酸类和黄酮类代谢过程中较为活跃。转录组与代谢组联合分析也表明类黄酮生物合成、苯丙素生物

合成、萜烷、嘧啶和吡啶丙酸盐生物合成、半胱氨酸与蛋氨酸代谢 4 条通路中的差异表达基因与差异代谢物呈明显正相关,说明 PZ2 和 PZ3 两个不同品种菠萝抗逆性的差异与氨基酸类、黄酮类物质的合成以及代谢有关^[29]。

黄酮类、氨基酸衍生物类以及木脂素类代谢物是植物抗逆性的重要影响物质^[30-31]。本研究中,抗逆性较强的菠萝品种中黄酮类、氨基酸衍生物类及木脂素、脂质等代谢物的含量高于抗逆性较差的品种,菠萝的抗逆性与以上代谢物质的积累有关。4-氧代-9Z,11Z,13E,15E-十八碳四烯酸和溶血磷脂酰胆碱分别属于脂肪酰基类和甘油磷脂类物质,是细胞膜的重要组成部分,在抵御植物低温胁迫过程中发挥着重要作用^[32],这两种代谢物在 PZ3 中含量高于 PZ2,能提高 PZ3 的抗逆性。黄酮类物质作为一类抗氧化剂,在植物应对低温等逆境时能有效清除细胞中的活性氧,提高植株免疫力^[29,33]。本研究中,筛选到的 16 种黄酮类差异代谢物在抗逆性较强的品种中的含量均显著高于抗逆性较差品种,说明抗氧化相关化合物的积累有利于提高菠萝的抗逆性^[34]。可溶性糖和脯氨酸等是常见的渗透保护物质,其含量的积累有助于维持低温、盐和干旱等逆境胁迫下细胞膜的流动性和稳定性,降低渗透压力的损害^[35-36]。本研究中,松脂醇-乙酰葡萄糖及脯氨酸类代谢物在 PZ3 中的含量高于 PZ2,均有利于提高 PZ3 对逆境的适应性与抗逆性。

参考文献:

[1] LIU C H, LIU Y. Fruit quality and differentially expressed genes of winter-harvested pineapple in response to elevated temperature over a short postharvest period[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2017, **130**: 21-27.

[2] 赵 婷, 陈子豪, 党云洁, 等. 菠萝叶药用成分的研究进展[J]. *中国药师*, 2018, **21**(3): 485-489.

[3] ZHAO T, CHEN Z H, DANG Y J, *et al.* Research progress in medicinal ingredients of *Ananas comosus* L. leaves[J]. *China Pharmacist*, 2018, **21**(3): 485-489.

[4] OGATA T, YAMANAKA S, SHODA M, *et al.* Current status of tropical fruit breeding and genetics for three tropical fruit species cultivated in Japan: Pineapple, mango, and papaya[J]. *Breeding Science*, 2016, **66**(1): 69-81.

[5] 王小媚, 任 惠, 刘业强, 等. 菠萝新品种‘金香菠萝’的选育[J]. *果树学报*, 2016, **33**(4): 509-512.

[6] WANG X M, REN H, LIU Y Q, *et al.* Breeding report of a new pineapple variety ‘Jinxiang Boluo’[J]. *Journal of Fruit Science*, 2016, **33**(4): 509-512.

[7] 马帅鹏, 李 静, 陈秀龙, 等. 广东江门菠萝的寒害调查和品种特性分析[J]. *中国农学通报*, 2014, **30**(25): 154-158.

[8] MA S P, LI J, CHEN X L, *et al.* Investigation and analysis of chilling damage and variety characteristics of different pineapple varieties in Jiangmen, Guangdong Province[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, **30**(25): 154-158.

[9] SHU H Y, LI K M, OU Y F, *et al.* Identification cold tolerance of pineapple germplasms at seedling stage[J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2021, **12**(12): 1 768-1 779.

[10] 张耀元, 刘 玲, 周秀娟, 等. 转录组和代谢组揭示独脚金内酯缺失影响水稻根和叶中的脂质和黄酮代谢[J]. *热带生物学*

报, 2020, **11**(4): 415-425.

ZHANG Y Y, LIU L, ZHOU X J, *et al.* Transcriptome and metabolome reveal that loss of strigolactone affects lipid and flavonoid metabolism in rice roots and leaves[J]. *Journal of Tropical Biology*, 2020, **11**(4): 415-425.

[8] 李 川, 乔江方, 黄 璐, 等. 转录组及代谢组联合解析玉米响应花粒期高温胁迫机制[J]. 华北农学报, 2020, **35**(1): 8-21.

LI C, QIAO J F, HUANG L, *et al.* Transcriptome and metabolome analysis to reveal the mechanisms responding to high temperature stress in anthesis stage of maize[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2020, **35**(1): 8-21.

[9] 颜秀娟, 何 鑫, 赵云霞, 等. 银川羊角椒雄性不育两用系转录组与代谢组关联分析[J]. 分子植物育种, 2021, **19**(13): 4 252-4 258.

YAN X J, HE X, ZHAO Y X, *et al.* Transcriptome and metabolomics association analysis of pepper(Yinchuan cavel) male sterility Lind[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, **19**(13): 4 252-4 258.

[10] 庞新跃, 张茵茵, 李白茹, 等. 广泛靶向代谢组学与转录组学联合分析胰蛋白酶对火龙果中抗氧化酶和饱和脂肪酸的调控[J]. 食品科学, 2022, **43**(1): 37-47.

PANG X Y, ZHANG Y Y, LI B R, *et al.* Widely targeted metabolomic and transcriptomic analyses reveal the regulation of trypsin on antioxidant enzymes and saturated fatty acids in *Hylocereus undatus* fruit during storage[J]. *Food Science*, 2022, **43**(1): 37-47.

[11] 许秋健, 李 丽, 王松标, 等. 代谢组和转录组联合分析果树生理机制的研究进展[J]. 果树学报, 2020, **37**(9): 1 413-1 424.

XU Q J, LI L, WANG S B, *et al.* Review of integrated metabolome and transcriptome analysis used for disclosing physiological mechanism in fruit crops[J]. *Journal of Fruit Science*, 2020, **37**(9): 1 413-1 424.

[12] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 [J]. *Genome Biology*, 2014, **15**(12): 550.

[13] FLOREA L, SONG L, SALZBERG S L. Thousands of exon skipping events differentiate among splicing patterns in sixteen human tissues[J]. *F1000Research*, 2013, **2**: 188.

[14] 普天磊, 韩学琴, 廖承飞, 等. 辣木抗逆相关研究现状及应用[J]. 生物技术通报, 2020, **36**(11): 133-140.

PU T L, HAN X Q, LIAO C F, *et al.* Research status on the stress resistance of *Moringa oleifera* and its application [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, **36**(11): 133-140.

[15] 杨红兰, 周 雅, 张道远. 转乙醛脱氢酶基因 ALDH 棉花对干旱和高盐抗性研究[J]. 新疆农业科学, 2015, **52**(7): 1 177-1 182.

YANG H L, ZHOU Y, ZHANG D Y. The research of transgenic ALDH cotton on drought and salt tolerance[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2015, **52**(7): 1 177-1 182.

[16] 林榕燕, 叶秀仙, 钟淮钦, 等. 霍山石斛托品酮还原酶基因的克隆及其表达分析[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, **39**(9): 1 196-1 206.

LIN R Y, YE X X, ZHONG H Q, *et al.* Cloning and expression analysis of tropinone reductase gene from *Dendrobium huoshanense*[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2017, **39**(9): 1 196-1 206.

[17] CHEN X H, SU W L, ZHANG H, *et al.* *Fraxinus mandshurica* 4-coumarate-CoA ligase 2 enhances drought and osmotic stress tolerance of tobacco by increasing coniferyl alcohol content[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, **155**: 697-708.

[18] 余 建, 刘长英, 赵爱春, 等. 桑树 1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶基因(MnACO)启动子功能分析[J]. 作物学报, 2017, **43**(6): 839-848.

YU J, LIU C Y, ZHAO A C, *et al.* Functional analysis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene's promoter in mulberry[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, **43**(6): 839-848.

[19] 翟 妞, 刘萍萍, 陈 霞, 等. 烟草谷胱甘肽转移酶基因 *NtGSTU17* 的鉴定及表达特性分析[J]. 烟草科技, 2016, **49**(8): 1-7.

ZHAI N, LIU P P, CHEN X, *et al.* Identification and expression analysis of a tobacco glutathione transferase gene *NtGSTU17*[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2016, **49**(8): 1-7.

[20] PRABHUKARTHIKEYAN S R, MANIKANDAN R, DURGADEVI D, *et al.* Bio-suppression of turmeric rhizome rot disease and understanding the molecular basis of tripartite interaction among *Curcuma longa*, *Pythium aphanidermatum* and *Pseudomonas fluorescens*[J]. *Biological Control*, 2017, **111**: 23-31.

[21] FU P N, WU W, LAI G T, *et al.* Identifying *Plasmopara viticola* resistance Loci in grapevine (*Vitis amurensis*) via genotyping-by-sequencing-based QTL mapping [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, **154**: 75-84.

[22] 张合琼, 张汉马, 梁永书, 等. 植物硝酸盐转运蛋白研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, **52**(2): 141-149.

ZHANG H Q, ZHANG H M, LIANG Y S, *et al.* Research progress of nitrate in plant transport mechanism[J]. *Plant Physiology Journal*, 2016, **52**(2): 141-149.

[23] GONG Q, YANG Z E, WANG X Q, *et al.* Salicylic acid-related cotton (*Gossypium arboreum*) ribosomal protein GaRPL18 contributes to resistance to *Verticillium dahliae*

[J]. *BMC Plant Biology*, 2017, **17**(1): 59.

[24] LE ROUX M S L, BURGER N F V, VLOK M, *et al.* Wheat line “RYNO3936” is associated with delayed water stress-induced leaf senescence and rapid water-deficit stress recovery[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, **11**: 1 053.

[25] 颜 彦, 韦运谢, 侯晓婉, 等. ASR 蛋白调控植物抗逆性的研究进展[J]. 热带作物学报, 2015, **36**(5): 1 006-1 012. YAN Y, WEI Y X, HOU X W, *et al.* Advances of ASR protein regulating plants’ tolerance to abiotic stress[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2015, **36**(5): 1 006-1 012.

[26] 赵小坤, 毛 钧, 字秋艳, 等. 割手密野生资源抗逆性研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2020, **21**(2): 287-295. ZHAO X K, MAO J, ZI Q Y, *et al.* Research progress on stress resistance of wild germplasms *Saccharum spontaneum* L[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, **21**(2): 287-295.

[27] 罗昌国, 渠慎春, 张计育, 等. 湖北海棠 *MhWRKY40b* 在几种胁迫下的表达分析[J]. 园艺学报, 2013, **40**(1): 1-9. LUO C G, QU S C, ZHANG J Y, *et al.* Expression analysis of *Malus hupehensis* (Pamp) Rehd. *MhWRKY40b* gene in response to several stresses[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, **40**(1): 1-9.

[28] TIWARI P, INDOLIYA Y, CHAUHAN A S, *et al.* Over-expression of rice R1-type MYB transcription factor confers different abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, **206**: 111 361.

[29] 侯伶俐, 杨雄榜, 董雪妮, 等. 逆境胁迫对苦荞花期总黄酮含量及关键酶基因表达的影响[J]. 核农学报, 2016, **30**(1): 184-192. HOU L L, YANG X B, DONG X N, *et al.* Effect of environmental stresses on the contents of total flavonoids and corresponding gene expression in *Fagopyrum tataricum* during florescence[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, **30**(1): 184-192.

[30] TREUTTER D. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis [J]. *Plant Biology* (Stuttgart, Germany), 2005, **7**(6): 581-591.

[31] 邢芳芳, 高明夫, 周传志, 等. 氨基酸与植物抗逆性关系的研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2018, (3): 150-155. XING F F, GAO M F, ZHOU C Z, *et al.* Advances in the relationship between amino acid and plant stress resistance [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2018, (3): 150-155.

[32] 徐洪雨, 李向林. 控水处理对紫花苜蓿抗寒性影响的代谢组学分析[J]. 草业学报, 2020, **29**(1): 106-116. XU H Y, LI X L. A metabolomics analysis of the effect of water deficit on the freezing tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, **29**(1): 106-116.

[33] 刘 荣, 刘清国, 范建新, 等. 果树抗寒性生理生化及分子机理研究进展[J]. 分子植物育种, 2017, **15**(5): 2 028-2 034. LIU R, LIU Q G, FAN J X, *et al.* Research advances in the cold-resistance physiology biochemistry and molecular mechanism in fruit crops[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, **15**(5): 2 028-2 034.

[34] ZHANG J Y, LUO W, ZHAO Y, *et al.* Comparative metabolomic analysis reveals a reactive oxygen species-dominated dynamic model underlying chilling environment adaptation and tolerance in rice[J]. *The New Phytologist*, 2016, **211**(4): 1 295-1 310.

[35] 崔会婷, 孙熙喏, 马承泽, 等. 代谢组学在牧草与草坪草抗逆性中的研究进展[J]. 草地学报, 2020, **28**(4): 873-880. CUI H T, SUN X N, MA C Z, *et al.* Advances in applications of metabolomics technology in stress resistance of forage and turfgrass[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, **28**(4): 873-880.

[36] 程琳琳, 安 锋, 谢贵水, 等. 植物抗寒调节物质研究进展[J]. 热带农业科学, 2020, **40**(5): 65-75. CHENG L L, AN F, XIE G S, *et al.* Research progress of plant cold-hardiness regulating substances[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2020, **40**(5): 65-75.

(编辑:宋亚珍)