

王前菊, 王 宇, 仲伟敏, 等. 基于 UPLC-MS/MS 的不同植物生长调节剂处理的猕猴桃果实中代谢物差异分析[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(8): 1542-1551.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.08.018

基于 UPLC-MS/MS 的不同植物生长调节剂处理的猕猴桃果实中代谢物差异分析

王前菊, 王 宇, 仲伟敏, 徐 特, 唐冬梅

(贵州省果树科学研究所, 贵州 贵阳 550006)

摘要: 本研究以金猕为试验材料, 探究氯吡脲(CPPU)和赤霉素(GA_3)对果实中次生代谢物的影响。基于超高效液相色谱-串联质谱技术(UPLC-MS/MS)对代谢组进行分析, 共检测到代谢物 411 种, 包括氨基酸及其衍生物、糖及醇类、核苷酸及其衍生物等。5 mg/L CPPU 处理、10 mg/L CPPU 处理果实中水平下调代谢物数量高于水平上调代谢物数量, 而 50 mg/L GA_3 处理、10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 处理果实中水平上调代谢物数量高于水平下调代谢物数量。与对照相比, 5 mg/L CPPU 处理、10 mg/L CPPU 处理、50 mg/L GA_3 处理、10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 处理果实单果重、横径、侧径显著提高($P<0.05$)。50 mg/L GA_3 处理、10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 处理果实单果重显著低于 5 mg/L CPPU 处理、10 mg/L CPPU 处理($P<0.05$)。综上所述, 10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 处理金猕产量和品质相对更佳, 本研究结果可为金猕栽培及品质评价提供参考。

关键词: 猕猴桃; UPLC-MS/MS; 氯吡脲(CPPU); 赤霉素(GA_3); 代谢物; 品质

中图分类号: S663.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)08-1542-10

Difference analysis of metabolites in kiwifruit treated with different plant growth regulators based on UPLC-MS/MS

WANG Qianju, WANG Yu, ZHONG Weimin, XU Te, TANG Dongmei

(Guizhou Institute of Fruit Tree Science, Guiyang 550006, China)

Abstract: Using Jinmi kiwifruit as the test material, the effects of forchlorfenuron (CPPU) and gibberellin (GA_3) on secondary metabolites in fruits were studied. A total of 411 metabolites, including amino acids and their derivatives, sugars and alcohols, nucleotides and their derivatives, were detected by ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The number of down-regulated metabolites was higher than that of up-regulated metabolites in fruits treated with 5 mg/L CPPU or 10 mg/L CPPU. The number of up-regulated metabolites was higher than that of down-regulated metabolites in fruits treated with 50 mg/L GA_3 or 10 mg/L CPPU + 50 mg/L GA_3 . Compared with the control, the single fruit weight, transverse diameter and lateral diameter of 5 mg/L CPPU treatment, 10 mg/L CPPU treatment, 50 mg/L GA_3 treatment and 10 mg/L CPPU + 50 mg/L GA_3 treatment increased significantly ($P<0.05$). The single fruit weight of 50 mg/L GA_3 treatment, 10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3

treatment was significantly lower than that of 5 mg/L CPPU treatment and 10 mg/L CPPU treatment ($P<0.05$). It can be concluded that the treatment of 10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 resulted in better yield and quality of Jinmi kiwifruit. This study result can provide reference for Jinmi kiwifruit cultivation and quality evaluation.

Key words: kiwifruit; UPLC-MS/MS; forchlorfenuron (CPPU); gibberellin (GA_3); metabolites; quality

收稿日期: 2023-11-20

基金项目: 国家柑橘产业体系猕猴桃贵阳综合试验站资助项目 (CARS-26-65); 贵州省科研机构创新能力建设专项[黔科合服企(2021)8号]

作者简介: 王前菊(1997-), 女, 贵州遵义人, 硕士, 研究实习员, 研究方向为果品贮藏与加工。(E-mail) 1453491966@qq.com

通讯作者: 唐冬梅, (E-mail) 89368775@qq.com

猕猴桃(*Actinidia chinensis*)富含维生素 C、氨基酸、酚类等多种营养物质,深受消费者青睐^[1-2]。金猕是一种黄肉早熟新品种,以金农 2 号作为母本、金阳 1 号雄株作为父本杂交选育而成^[3],其果实呈圆柱形,被稀疏短茸毛,果皮褐绿色,果肉由绿黄色转为黄色,果肉多汁香甜,被很多地区引种栽培^[3-4]。在自然环境中生长的猕猴桃容易出现落花落果、果实较小的问题,大多数果农在生产中都会使用植物生长调节剂提高猕猴桃的产量,提升其商品性^[5-6]。氯吡脲(Forchlorfenuron, CPPU)是一种细胞分裂素,含苯脲结构,能够促进细胞的分裂,使果实体积增大,实现增产增收^[7]。赤霉素(Gibberellin, GA₃)是植物五大激素之一,赤霉素通过调节生长素含量刺激植物生长发育,提高果实品质和产量^[8]。但植物生长调节剂的效果也会因品种、浓度、时间的不同而有所差异,不合理的使用会使果实品质下降^[9]。因此,探索能够提高猕猴桃品质的植物生长调节剂具有重要意义。

目前,冯娇等^[10]以阳光玫瑰葡萄为研究对象,探究了 CPPU 和 GA₃对果皮中次生代谢物含量的影响。Olmedo 等^[11]发现使用 CPPU 处理葡萄果实,在采收时果实中积累了与碳水化合物代谢、糖酵解和三羧酸循环相关的酶,由此可知 CPPU 通过调节中心碳代谢改善了葡萄的品质。朱杰丽等^[12]以徐香猕猴桃为试验材料,发现用 5~10 mg/L CPPU 处理猕猴桃能促进果实生长,提高果实的营养品质。赵燕妮等^[13]采用气相色谱质谱联用(GC-MS)技术研究了海沃德、啞特和徐香 3 种猕猴桃果实的差异代谢物,发现在啞特中抗坏血酸含量最高,在海沃德中单糖类含量最高,徐香中大多数有机酸和部分氨基酸含量均较高。代谢物含量是果实营养品质的关键指标,这些代谢物在果实成熟中起着重要作用^[14]。目前,关于 CPPU 和 GA₃对金猕猕猴桃果实代谢物影响的研究鲜见报道。本研究利用 CPPU 和 GA₃处理金猕果实,并对果实品质及代谢物进行比较分析,以确定 CPPU 和 GA₃的最佳使用浓度,从而为金猕猕猴桃的区域化生产和栽培提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以金猕为试验材料,种植地点为贵州省清镇市

红枫湖。人工授粉 30 d 后,进行 1 次浸果处理,时长 15 s。试验设置 5 个处理,分别为清水对照(CK),5 mg/L CPPU 处理(A1),10 mg/L CPPU 处理(A2),50 mg/L GA₃处理(A3),10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃处理(A4)。每个浓度处理 3 次重复,待可溶性固形物含量高于 7.5%后,随机采摘 50 个猕猴桃,置于室温(25 ℃),待果实软熟后取样。

1.2 试验方法

1.2.1 果实品质的测定 果实外在品质:单果重、横径、纵径、侧径和果形指数(纵径/横径)。

果实内在品质:可溶性固形物含量、V_c含量、可滴定酸含量、总糖含量,测定方法参照解鑫等^[15]的方法。

1.2.2 果实代谢物的测定 将猕猴桃果实去皮,打浆,置于液氮中,在-80 ℃冰箱中保存。基于超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法检测果实的代谢物,UPLC-MS/MS 条件参照龚意辉等^[16]的方法稍作修改。

1.3 数据分析

利用 Excel 2020 和软件 Analyst 1.6.3 对数据进行处理及统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理果实的品质分析

由表 1 可知,浸果处理后,A1、A2、A3、A4 处理果实横径、侧径、单果重均显著高于 CK ($P<0.05$),其中 A1、A2 处理果实横径、纵径、单果重显著高于 A3、A4 处理($P<0.05$)。从果形指数来看,A1、A2、A4 处理果实果形指数显著低于 CK ($P<0.05$)。由此可知,CPPU 和 GA₃浸果处理均能够促进猕猴桃果实横径和纵径增大,果形指数也发生了变化。

由表 2 可知,A1、A4 处理果实 V_c含量与 CK 相比无显著差异($P>0.05$),与 CK 相比,A2、A3 处理果实 V_c含量显著降低($P<0.05$),其中 A3 处理果实 V_c含量最低,为 1.503 9 mg/g。与 CK 相比,A1、A2、A3、A4 处理果实可溶性固形物含量显著降低($P<0.05$)。A4 处理果实可滴定酸含量最低,为 1.32%。固酸比即可溶性固形物含量和可滴定酸含量之比,A4 处理果实固酸比最高,为 15.40,A3 处理果实固酸比最低,为 10.93。A3 和 A4 处理果实总糖含量与 CK 无显著差异($P>0.05$),与 CK 相比,A1 和 A2 处理果实总糖含量显著降低($P<0.05$)。

表 1 不同处理对猕猴桃果实外在品质的影响

Table 1 Effects of different treatments on fruit external quality of kiwifruit

处理	纵径 (mm)	横径 (mm)	侧径 (mm)	果形指数	单果重 (g)
CK	46.02±1.82c	41.24±2.82c	39.16±1.60b	1.12±0.11a	48.61±3.86c
A1	55.26±4.26a	55.11±5.66a	46.07±3.31a	1.01±0.06bc	93.75±4.79a
A2	54.63±1.66a	53.41±0.53a	45.84±1.98a	0.94±0.02c	93.76±5.01a
A3	50.01±1.95b	46.49±1.97b	43.08±2.13a	1.08±0.01ab	59.20±4.60b
A4	48.47±1.48bc	47.73±1.64b	43.23±1.59a	1.02±0.03b	57.67±4.18b

CK:清水对照;A1:5 mg/L 氯吡脞(CPPU)处理;A2:10 mg/L CPPU 处理;A3:50 mg/L赤霉素(GA₃)处理;A4:10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 处理。同一列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

表 2 不同处理对猕猴桃果实内在品质的影响

Table 2 Effects of different treatments on intrinsic quality of kiwifruit

不同处理	V _c 含量 (mg/g)	可溶性固形物含量 (%)	可滴定酸含量 (%)	总糖含量 (mg/g)	固酸比
CK	2.300 7±0.184 7ab	22.56±0.58a	1.78±0a	264.46±4.57a	12.67±0.31bc
A1	2.064 7±0.186 1bc	19.36±1.49b	1.74±0a	220.63±4.81b	11.13±1.20d
A2	1.754 4±0.124 1cd	20.48±0.26b	1.49±0ab	206.42±4.05c	13.74±5.22b
A3	1.503 9±0.619 0e	19.12±1.67b	1.75±0a	275.12±4.73a	10.93±0.42d
A4	2.467 9±0.116 0a	20.33±1.77b	1.32±0c	271.57±8.85a	15.40±1.08a

CK:清水对照;A1:5 mg/L 氯吡脞(CPPU)处理;A2:10 mg/L CPPU 处理;A3:50 mg/L赤霉素(GA₃)处理;A4:10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 处理。同一列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同处理果实的代谢物分析

如图 1 所示,猕猴桃经浸果处理后,果实内代谢物有 411 种,其中有机酸 64 种,游离脂肪酸 34 种,维生素 20 种,溶血磷脂酰乙醇胺 28 种,溶血磷脂酰胆碱 35 种,核苷酸及其衍生物 56 种,甘油酯类 12 种,酚酸类 12 种,糖及醇类 46 种,氨基酸及其衍生物 101 种,脂质 3 种。不同处理果实的代谢物种类和数量相同,但不同处理果实各代谢物相对含量差异明显。

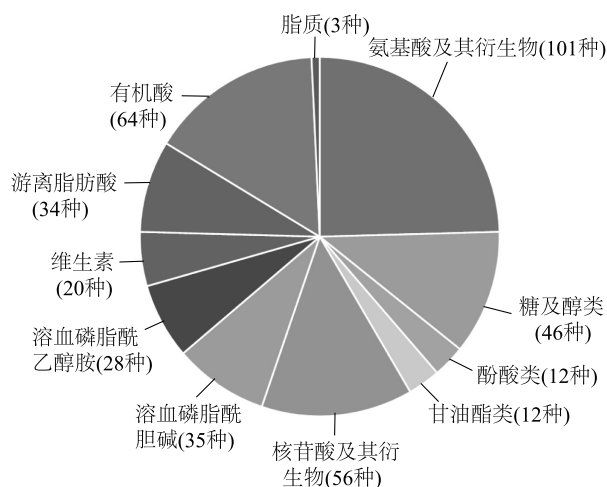


图 1 猕猴桃果实代谢物

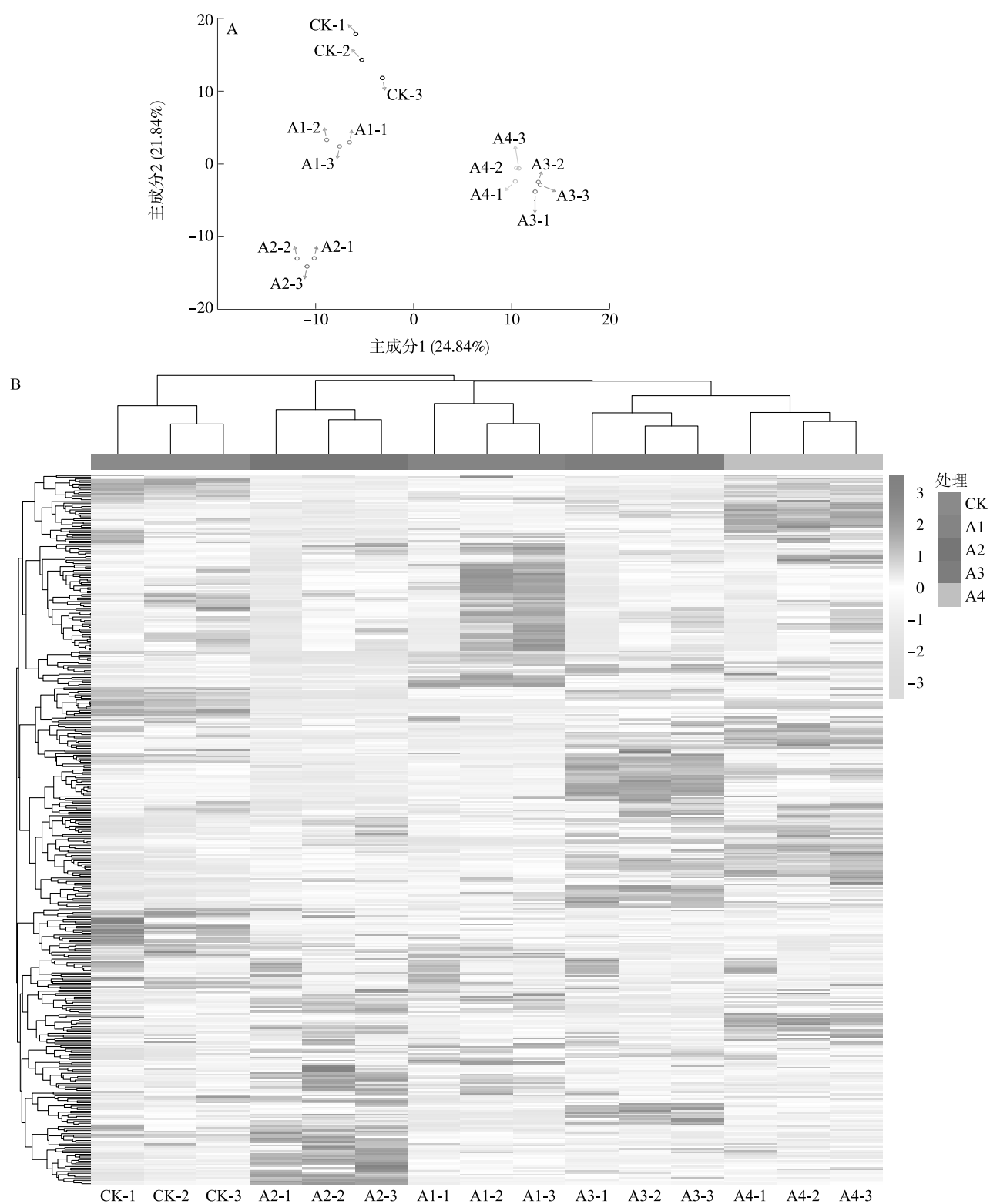
Fig.1 Fruit metabolites of kiwifruit

2.3 不同处理果实代谢物的 PCA 和聚类分析

主成分分析(PCA)是一种将数据投射到低维空间的降维技术,可以对模型样品的分类能力进行更直观的评估^[17]。由图 2A 可知,PC1 和 PC2 的贡献率分别为 24.84% 和 21.84%。同一处理样本较聚集,不同处理样本分离趋势明显,A3、A4 处理的代谢物种类和含量比较接近,在同一类中聚集在一起。A1、A2、A3、A4 处理与 CK 在猕猴桃代谢物种类和含量方面存在较大差异,CK 单独聚在一起。综合 PCA 和聚类分析结果来看,不同生长调节剂处理的猕猴桃果实之间代谢物存在明显的差异。

2.4 不同处理果实的 OPLS-DA 分析和模型验证分析

正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)是通过去除代谢物中与分类变量不相关的差异变量,从而筛选出差异代谢物的有效方法^[18]。为进一步挖掘生长调节剂对果实代谢物质的影响,分别将 CK 和 A1、A2、A3、A4 处理进行比较。如图 3 所示,CK 和 A1 的比较组 PC1 和 PC2 贡献率分别为 48.5% 和 25.1%;CK 和 A2 比较组 PC1 和 PC2 贡献率分别为 54.6% 和 16.6%;CK 和 A3 的比较组 PC1 和 PC2 贡献率分别为 53.1% 和 21.6%;CK 和 A4 的比较组



CK:清水对照;A1:5 mg/L氯吡脞(CPPU)处理;A2:10 mg/L CPPU 处理;A3:50 mg/L赤霉素(GA₃)处理;A4:10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃处理。CK-1、CK-2、CK-3为CK的3个重复;A1-1、A1-2、A1-3为A1处理的3个重复;A2-1、A2-2、A2-3为A2处理的3个重复;A3-1、A3-2、A3-3为A3处理的3个重复;A4-1、A4-2、A4-3为A4处理的3个重复。

图2 猕猴桃果实代谢物的主成分分析(PCA)(A)和聚类分析(B)

Fig.2 Principal component analysis (PCA) (A) and cluster analysis (B) of kiwifruit metabolites

PC1 和 PC2 贡献率分别为 50.5% 和 22.5%。各比较组表现出明显的分离趋势。

由图 3 可知, CK 和 A1 的比较组 R^2X 、 R^2Y 、 Q^2 分别为 0.736、1.000、0.934; CK 和 A2 的比较组 R^2X 、 R^2Y 、 Q^2 分别为 0.712、0.999、0.970; CK 和 A3 的

比较组 R^2X 、 R^2Y 、 Q^2 分别为 0.748、0.996、0.965; CK 和 A4 的比较组 R^2X 、 R^2Y 、 Q^2 分别为 0.730、0.997、0.950。各比较组 OPLS-DA 模型的评价参数中各指标均 >0.500 , 且 $Q^2 > 0.900$, 说明 OPLS-DA 模型准确性高, 可以根据 VIP 值筛选出差异代谢物。

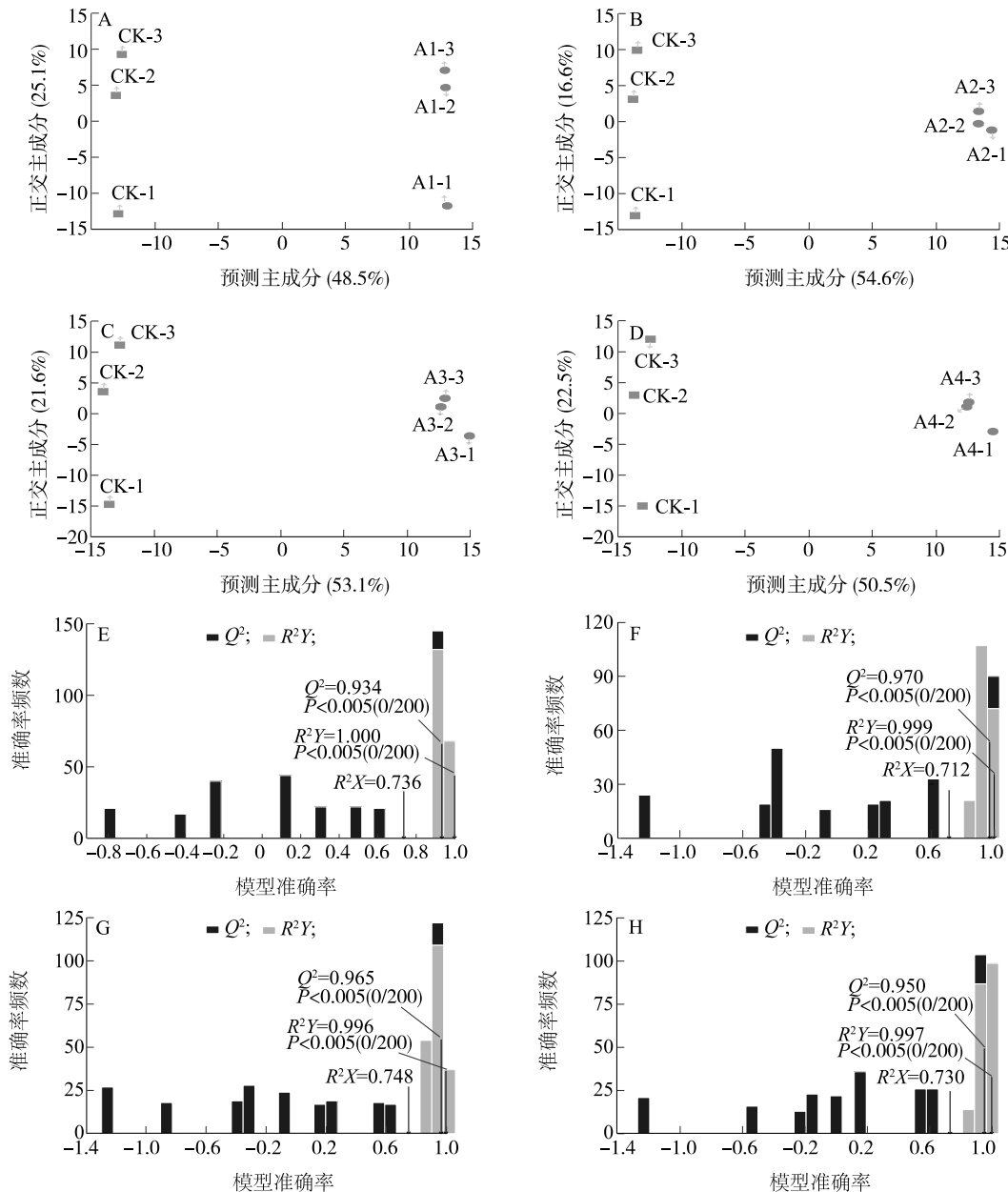


图 A、E 分别为 CK 和 A1 的比较组的得分图和验证图;图 B、F 为 CK 和 A2 的比较组的得分图和验证图;图 C、G 为 CK 和 A3 的比较组的得分图和验证图;图 D、H 为 CK 和 A4 的比较组的得分图和验证图。CK: 清水对照; A1: 5 mg/L 氯吡啶 (CPPU) 处理; A2: 10 mg/L CPPU 处理; A3: 50 mg/L 赤霉素 (GA_3) 处理; A4: 10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 处理。CK-1、CK-2、CK-3 为 CK 的 3 个重复; A1-1、A1-2、A1-3 为 A1 处理的 3 个重复; A2-1、A2-2、A2-3 为 A2 处理的 3 个重复; A3-1、A3-2、A3-3 为 A3 处理的 3 个重复; A4-1、A4-2、A4-3 为 A4 处理的 3 个重复。 R^2X 、 R^2Y 分别表示所建模型对 X、Y 矩阵的解释率; Q^2 表示模型的预测能力。

图 3 猕猴桃果实代谢物的正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 得分图和验证图

Fig.3 Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) score and validation plots of kiwifruit metabolites

2.5 不同处理果实的差异代谢物成分

基于 OPLS-DA 的结果,按照 $\text{Fold change} \geq 2$, $\text{Fold change} \leq 0.5$, $\text{VIP} \geq 1$ 寻找差异代谢物^[19],结果如图 4 和表 3 所示。在 CK 和 A1 的比较组中,筛选出 34 种差异代谢物,其中氨基酸及其衍生物占 14.71% (与 CK 相比,A1 处理果实中 1 种氨基酸及其衍生物含量上升,4 种氨基酸及其衍生物含量下降);糖及醇类占 8.82% (与 CK 相比,A1 处理果实中 2 种糖及醇类含量上升,1 种糖及醇类含量下降);酚酸类占 5.88% (与 CK 相比,A1 处理果实中 1 种酚酸类含量上升,1 种酚酸类含量下降);核苷酸及其衍生物占 38.24% (与 CK 相比,

A1 处理果实中 1 种核苷酸及其衍生物含量上升,12 种核苷酸及其衍生物含量下降);溶血磷脂酰胆碱占 17.65% (与 CK 相比,A1 处理果实中 5 种溶血磷脂酰胆碱含量上升,1 种溶血磷脂酰胆碱含量下降);游离脂肪酸占 8.82% (与 CK 相比,A1 处理果实中 1 种游离脂肪酸含量上升,2 种游离脂肪酸含量下降);有机酸占 5.88% (与 CK 相比,A1 处理果实中 1 种有机酸含量上升,1 种有机酸含量下降)。共有 12 种代谢物含量上升,占比 35.29%,22 种代谢物含量下降,占比 64.71%,含量下降代谢物数量高于含量上升代谢物数量,含量下降数量最多的代谢物是核苷酸及其衍生物。

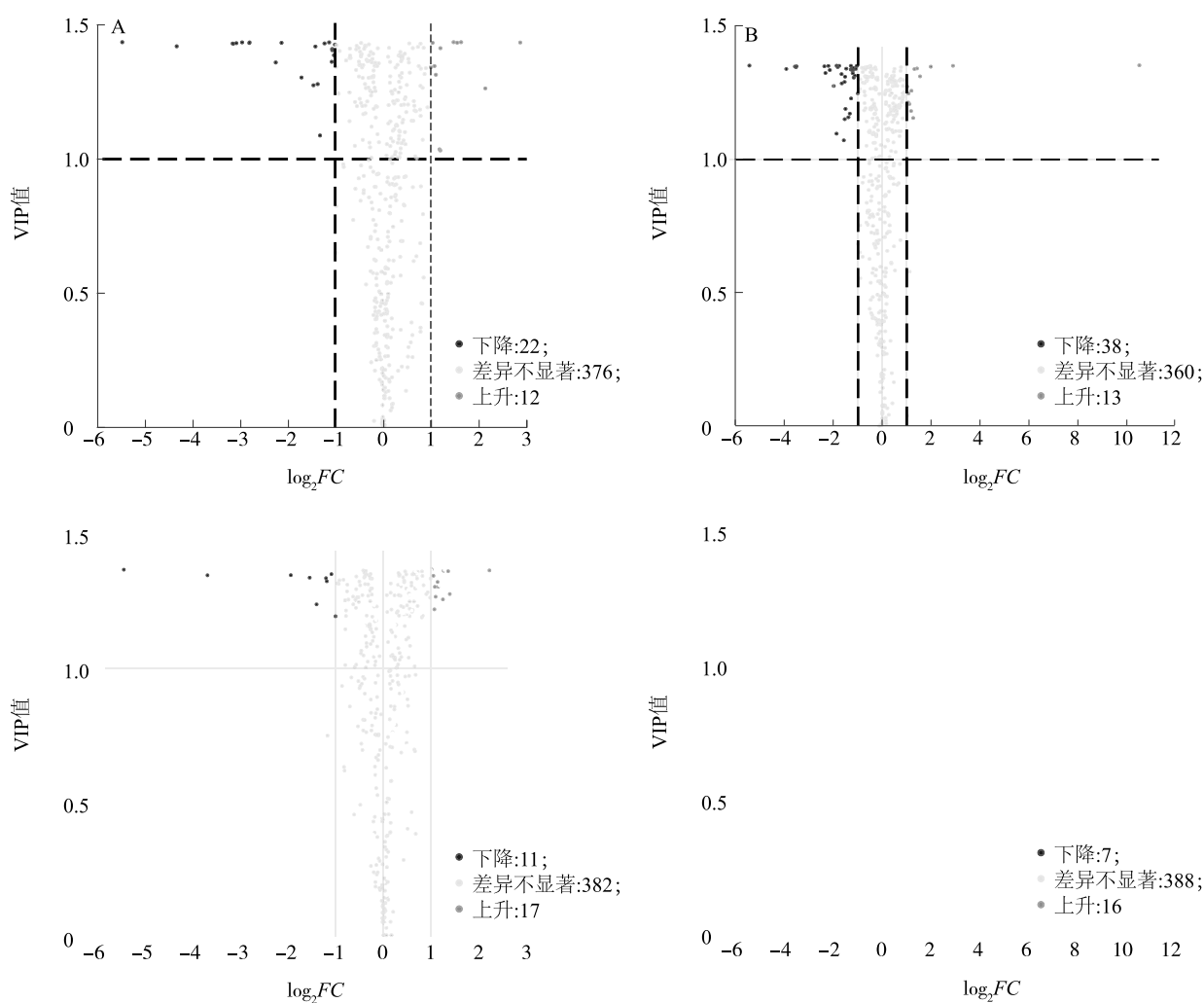


图 A 为 CK 和 A1 的比较组;图 B 为 CK 和 A2 的比较组;图 C 为 CK 和 A3 的比较组;图 D 为 CK 和 A4 的比较组。VIP 值:OPLS-DA 模型的变量重要性投影;FC:差异倍数。

图 4 各比较组猕猴桃果实差异代谢物火山图

Fig.4 Volcano map of different metabolites in kiwifruit of each comparison group

表 3 各比较组猕猴桃果实差异代谢物汇总

Table 3 Summary of different metabolites in kiwifruit of each comparison group

代谢物	水平	CK 和 A1 的比较组	CK 和 A2 的比较组	CK 和 A3 的比较组	CK 和 A4 的比较组
氨基酸及其衍生物类	上调	<i>L</i> -天冬酰胺	氧化谷胱甘肽、 <i>N</i> -(3-吡啶乙酰基)- <i>L</i> -丙氨酸、 <i>N</i> -乙酰- <i>L</i> -亮氨酸	<i>N,N</i> -二甲基甘氨酸、 <i>S</i> -甲基谷胱甘肽、5-氧脯氨酸	酪胺
	下调	<i>L</i> -色氨酸、环(脯氨酸-苯丙氨酸)、 <i>N</i> -甲酰蛋氨酸、3-(2-萘基)- <i>D</i> -丙氨酸	<i>L</i> -色氨酸、 <i>L</i> -(+)-精氨酸、缬氨酸-亮氨酸、3-(2-萘基)- <i>D</i> -丙氨酸、环(脯氨酸-苯丙氨酸)、 <i>N</i> -甲酰蛋氨酸、高精氨酸、 <i>N</i> -α-乙酰- <i>L</i> -精氨酸、 <i>L</i> -哌啶酸	环(脯氨酸-苯丙氨酸)	<i>L</i> -色氨酸、环(脯氨酸-亮氨酸)、3-(2-萘基)- <i>D</i> -丙氨酸、环(脯氨酸-苯丙氨酸)
糖及醇类	上调	<i>N</i> -乙酰葡萄糖胺-1-磷酸、 <i>D</i> -葡萄糖-6-磷酸	<i>N</i> -乙酰葡萄糖胺-1-磷酸、古洛糖酸内酯、 <i>D</i> -果糖-6-磷酸	<i>N</i> -乙酰葡萄糖胺-1-磷酸、古洛糖酸内酯、 <i>D</i> -葡萄糖-6-磷酸、 <i>D</i> -果糖-6-磷酸、葡萄糖-1-磷酸	古洛糖酸内酯、 <i>L</i> -岩藻糖、1,5-酞- <i>D</i> -山梨糖醇
	下调	阿东糖醇	木糖醇、阿东糖醇、氨基葡萄糖	无	无
酚酸类	上调	水杨酸	丁香酸	无	咖啡酸
	下调	肉桂酸	对-氨基苯甲酸、肉桂酸、高香草酸、咖啡酸	肉桂酸	无
核苷酸及其衍生物类	上调	<i>N</i> 6-异戊烯腺嘌呤	<i>N</i> 6-异戊烯腺嘌呤	<i>N</i> 6-异戊烯腺嘌呤、尿苷 5'-二磷酸	腺苷 3'-单磷酸、腺苷 5'-单磷酸、尿苷 5'-二磷酸- <i>D</i> -葡萄糖、尿苷 5'-二磷酸
	下调	阿糖肌苷、腺苷、腺嘌呤核苷、腺苷 5'-单磷酸、二甲基氨基鸟苷、2-脱氧肌苷、2-脱氧腺苷、甲基鸟苷、黄素腺嘌呤二核苷酸、黄嘌呤、脱氧胞苷、胞苷-5'-单磷酸	阿糖肌苷、腺苷、腺嘌呤核苷、二甲基氨基鸟苷、2-脱氧肌苷、2-脱氧腺苷、甲基鸟苷、胞嘧啶、黄嘌呤、脱氧胞苷、胞苷、胞苷-5'-单磷酸	脱氧胞苷、胞苷	7-甲基鸟嘌呤
溶血磷脂酰胆碱类	上调	溶血磷脂酰胆碱 18 : 1、溶血磷脂酰胆碱 19 : 2 (2 <i>n</i> 异构)、溶血磷脂酰胆碱 19 : 2、溶血磷脂酰胆碱 19 : 0、溶血磷脂酰胆碱 18 : 1 (2 <i>n</i> 异构)	无	溶血磷脂酰胆碱 19 : 0	溶血磷脂酰胆碱 19 : 2
	下调	溶血磷脂酰胆碱 22 : 6	溶血磷脂酰胆碱 19 : 2、溶血磷脂酰胆碱 20 : 4、溶血磷脂酰胆碱 22 : 6	溶血磷脂酰胆碱 15 : 0 (2 <i>n</i> 异构)、溶血磷脂酰胆碱 20 : 4、溶血磷脂酰胆碱 22 : 6、溶血磷脂酰乙醇胺 16 : 3	溶血磷脂酰胆碱 22 : 6
游离脂肪酸类	上调	13-酮十八碳二烯酸	无	无	4-氧代-十八碳四烯酸
	下调	二十碳二烯酸、花生酸	13-氧代-9-羟基-10-十八酸、9,10-二羟基-12-十八酸、花生酸	无	
有机酸类	上调	1-氨基环丙烷羧酸	对羟基苯甲酸	γ-氨基丁酸、精氨基琥珀酸、氨基丙二酸、琥珀酸酐、3,5-二羟基-3-甲基戊酸	2-羟基-(4-羟基苯基)丙酸、3,5-二羟基-3-甲基戊酸、对羟基苯甲酸、草酰乙酸
	下调	羟基异己酸乙酯	反式乌头酸、2-异丙基苹果酸、羟基异己酸乙酯	2-异丙基苹果酸、羟基异己酸乙酯	羟基异己酸乙酯
甘油酯类	上调	无	单酰甘油酯(酰基 18 : 4)异构、单酰甘油酯二糖 18 : 2 异构 1、单酰甘油酯二糖 18 : 1	无	无
	下调	无	无	无	无
维生素类	上调	无	烟酰胺	烟酰胺	烟酰胺
	下调	无	吡哆醇 O-阿魏酰己糖苷	维生素 D ₃	无

CK:清水对照;A1:5 mg/L氯吡脞(CPPU)处理;A2:10 mg/L CPPU 处理;A3:50 mg/L赤霉素(GA₃)处理;A4:10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃处理。

在 CK 和 A2 的比较组中,筛选出 51 种差异代谢物,其中氨基酸及其衍生物占 23.53%(与 CK 相比,A2 处理果实中 3 种氨基酸及其衍生物含量上升,9 种氨基酸及其衍生物含量下降);糖及醇类占 11.76%(与 CK 相比,A2 处理果实中 3 种糖及醇类含量上升,3 种糖及醇类含量下降);酚酸类占 9.80%(与 CK 相比,A2 处理果实中 1 种酚酸类含量上升,4 种酚酸类含量下降);核苷酸及其衍生物占 25.49%(与 CK 相比,A2 处理果实中 1 种核苷酸及其衍生物含量上升,12 种核苷酸及其衍生物含量下降);溶血磷脂酰胆碱占 5.88%(与 CK 相比,A2 处理果实中 3 种溶血磷脂酰胆碱含量下降);游离脂肪酸占 5.88%(与 CK 相比,A2 处理果实中 3 种游离脂肪酸含量下降);有机酸占 7.84%(与 CK 相比,A2 处理果实中 1 种有机酸含量上升,3 种有机酸含量下降);甘油酯占 5.88%(与 CK 相比,A2 处理果实中 3 种甘油酯含量上升);维生素占 3.92%(与 CK 相比,A2 处理果实中 1 种维生素含量上升,1 种维生素含量下降)。共有 13 种代谢物含量上升,占比 25.49%,38 种代谢物含量下降,占比 74.51%,含量下降代谢物数量高于含量上升代谢物数量,含量下降数量最多的代谢物是核苷酸及其衍生物。

在 CK 和 A3 的比较组中,筛选出 28 种差异代谢物,其中氨基酸及其衍生物占 14.29%(与 CK 相比,A3 处理果实中 3 种氨基酸及其衍生物含量上升,1 种氨基酸及其衍生物含量下降);糖及醇类占 17.86%(与 CK 相比,A3 处理果实中 5 种糖及醇类含量上升);酚酸类占 3.57%(与 CK 相比,A3 处理果实中 1 种酚酸类含量下降);核苷酸及其衍生物占 14.29%(与 CK 相比,A3 处理果实中 2 种核苷酸及其衍生物含量上升,2 种核苷酸及其衍生物含量下降);溶血磷脂酰胆碱占 17.86%(与 CK 相比,A3 处理果实中 1 种溶血磷脂酰胆碱含量上升,4 种溶血磷脂酰胆碱含量下降);有机酸占 25.00%(与 CK 相比,A3 处理果实中 5 种有机酸含量上升,2 种有机酸含量下降);维生素占 7.14%(与 CK 相比,A3 处理果实中 1 种维生素含量上升,1 种维生素含量下降)。共有 17 种代谢物含量上升,占比 60.71%,11 种代谢物含量下降,占比 39.29%,含量上升代谢物数量高于含量下降代谢物数量,含量下降数量最多的代谢物是溶血磷脂酰胆碱。

在 CK 和 A4 的比较组中,筛选出 23 种差异代谢物,其中氨基酸及其衍生物占 21.74%(与 CK 相比,A4 处理果实中 1 种氨基酸及其衍生物含量上升,4 种氨基

酸及其衍生物含量下降);糖及醇类占 13.04%(与 CK 相比,A4 处理果实中 3 种糖及醇类含量上升);酚酸类占 4.35%(与 CK 相比,A4 处理果实中 1 种酚酸类含量上升);核苷酸及其衍生物占 21.74%(与 CK 相比,A4 处理果实中 4 种核苷酸及其衍生物含量上升,1 种核苷酸及其衍生物含量下降);溶血磷脂酰胆碱占 8.70%(与 CK 相比,A4 处理果实中 1 种溶血磷脂酰胆碱含量上升,1 种溶血磷脂酰胆碱含量下降);游离脂肪酸占 4.35%(与 CK 相比,A4 处理果实中 1 种游离脂肪酸含量上升);有机酸占 21.74%(与 CK 相比,A4 处理果实中 4 种有机酸含量上升,1 种有机酸含量下降);维生素占 4.35%(与 CK 相比,A4 处理果实中 1 种维生素含量上升)。共有 16 种代谢物含量上升,占比 69.57%,7 种代谢物含量下降,占比 30.43%,含量上升代谢物数量高于含量下降代谢物数量,含量下降数量最多的代谢物是氨基酸及其衍生物。

2.6 不同处理果实的差异代谢物通路分析

对不同处理果实中的差异代谢物进行 KEGG 通路富集分析,更有利于理解差异代谢物在代谢途径中的变化^[20]。如图 5A 所示,CK 和 A1 的比较组中,KEGG 鉴定到的差异代谢物主要富集在 28 条通路(图中显示前 20 条)上,显著富集在次生代谢产物的生物合成(Biosynthesis of secondary metabolites)、嘌呤代谢(Purine metabolism)、植物激素信号转导(Plant hormone signal transduction)和核黄素代谢(Riboflavin metabolism)4 条通路上($P < 0.05$),富集程度最高的为次生代谢产物的生物合成通路,与该通路相关的有 *D*-葡萄糖-6-磷酸、*L*-色氨酸、肉桂酸 3 个差异代谢物。如图 5B 所示,CK 和 A2 的比较组中,KEGG 鉴定到的差异代谢物主要富集在 42 条通路(图中显示前 20 条)上,富集程度最高的为叶酸生物合成通路(Folate biosynthesis)($P < 0.05$),与该通路相关的有酚酸类、有机酸类 2 种差异代谢物,包括对-氨基苯甲酸、对羟基苯甲酸。如图 5C 所示,CK 和 A3 的比较组中,KEGG 鉴定到的差异代谢物主要富集在 34 条通路(图中显示前 20 条)上,富集程度最高的为淀粉和蔗糖代谢通路(Starch and sucrose metabolism)($P < 0.05$),与该通路有关的差异代谢物是糖及醇类,包括 *D*-葡萄糖-6-磷酸、*D*-果糖-6-磷酸、葡萄糖-1-磷酸。其中 *D*-果糖-6-磷酸是生物体内常见的分子之一,属于酮糖。CK 和 A4 的比较组中,KEGG 鉴定到的差异代谢物主要富集在 34 条通路(图中显示前 20 条)上,富集程度最

高的为玉米素生物合成 (Zeatin biosynthesis) ($P < 0.05$), 与该通路有关的差异代谢物为核苷酸及其衍

生物, 包括单磷酸腺苷 (AMP)、尿苷 5'-二磷酸-D-葡萄糖、尿苷 5'-二磷酸。

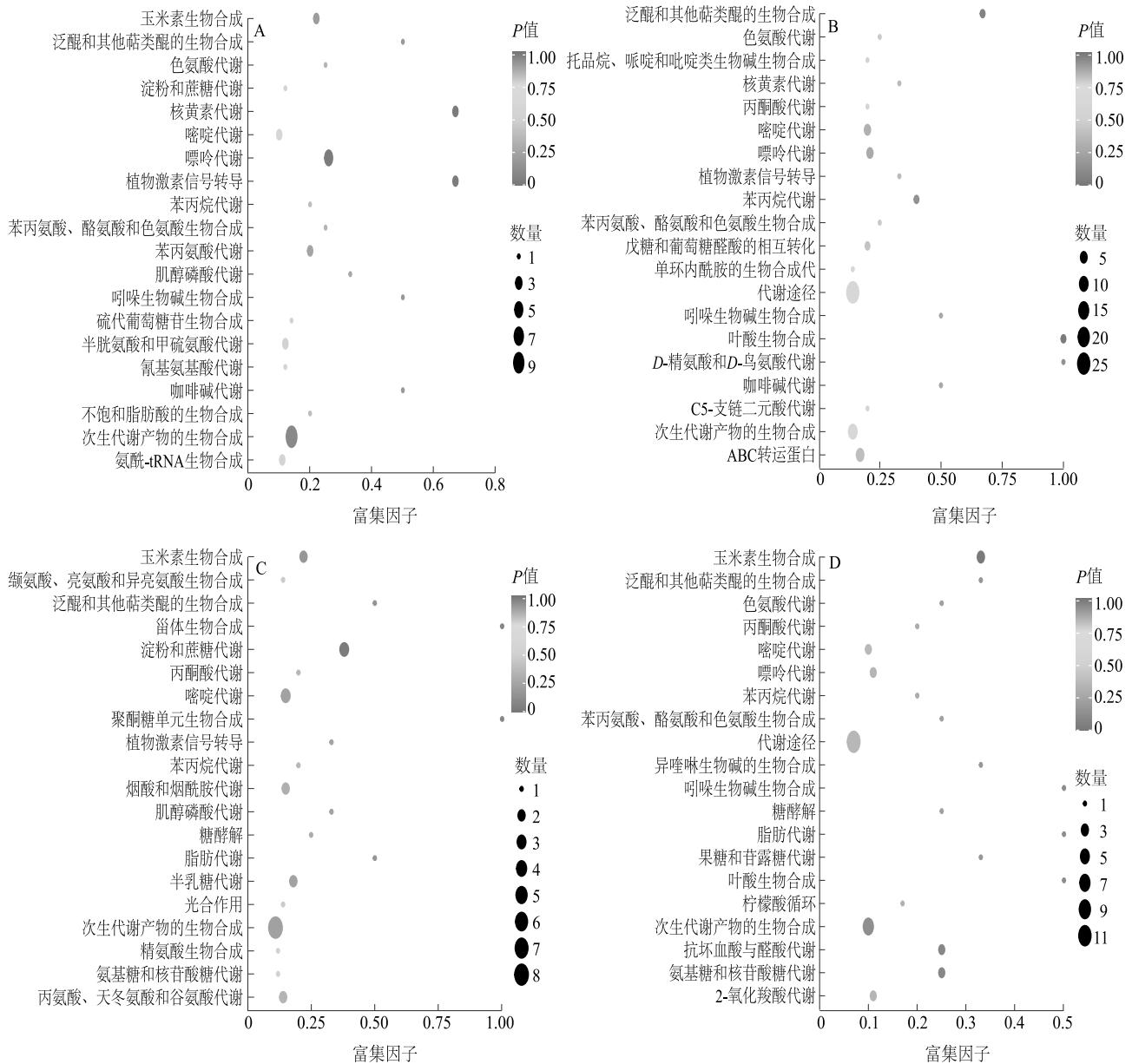


图 A 为 CK 和 A1 的比较组; 图 B 为 CK 和 A2 的比较组; 图 C 为 CK 和 A3 的比较组; 图 D 为 CK 和 A4 的比较组。CK: 清水对照; A1: 5 mg/L 氯吡脞 (CPPU) 处理; A2: 10 mg/L CPPU 处理; A3: 50 mg/L 赤霉素 (GA_3) 处理; A4: 10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 处理。

图 5 各比较组猕猴桃果实差异代谢物 KEGG 通路 (前 20 条) 富集分析结果

Fig.5 Results of enrichment analysis of KEGG pathway of different metabolites in kiwifruit of each comparison group

综上可知, 用不同植物生长调节剂处理的果实代谢物发生了不同的变化, 这些富集通路和代谢物质的变化造成了猕猴桃品质的变化。

3 讨论

本研究基于 UPLC-MS/MS 分析了清水、5

mg/L CPPU 处理、10 mg/L CPPU 处理、50 mg/L GA_3 处理、10 mg/L CPPU+50 mg/L GA_3 处理对金猕猴桃果实代谢物的影响。与对照相比, 5 mg/L CPPU 处理的金猕猴桃果实有 34 种差异代谢物, 显著富集的代谢途径有 4 条 ($P < 0.05$)。与对照相比, 10 mg/L CPPU 处理的金猕猴桃果实有 51 种差异代谢物。

50 mg/L GA₃ 处理的金猕猴桃有 28 种差异代谢物。10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 处理的金猕猴桃有 23 种差异代谢物。其中 5 mg/L CPPU 处理、10 mg/L CPPU 处理果实中含量下降代谢物数量高于含量上升代谢物数量,与 Bi 等^[6]的结果相似。而 50 mg/L GA₃ 处理、10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 处理果实中含量上升代谢物数量高于含量下降代谢物数量。与对照相比,5 mg/L CPPU 处理、10 mg/L CPPU 处理、50 mg/L GA₃ 处理、10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 处理果实单果重、横径、侧径显著提高 ($P<0.05$)。与对照相比,10 mg/L CPPU 处理果实 V_c、可溶性固形物含量显著降低 ($P<0.05$),该结论与李为福等^[5]的研究结果相似。50 mg/L GA₃ 处理、10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 处理果实单果重显著低于 5 mg/L CPPU 处理、10 mg/L CPPU 处理 ($P<0.05$),该结论与刘铭等^[21]的结论相似。50 mg/L GA₃ 处理果实中 V_c 含量最低,10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 处理果实中 V_c、总糖含量与对照相比无显著差异 ($P>0.05$)。

因此,综上所述,10 mg/L CPPU+50 mg/L GA₃ 浸果处理猕猴桃的产量及品质更佳。在今后的工作中还应考虑其他浓度 CPPU+GA₃ 处理对猕猴桃品质及营养成分的影响,以进一步提高果实品质。

参考文献:

- [1] MAI Y H, ZHUANG Q G, LI Q H, et al. Ultrasound-assisted extraction, identification, and quantification of antioxidants from 'Jinfeng' kiwifruit [J]. *Foods*, 2022, 11(6): 827-827.
- [2] LIAO G L, XU X B, HUANG C H, et al. Resource evaluation and novel germplasm mining of *Actinidia eriantha* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 282(10): 110037.
- [3] 姚春潮, 李建军, 郁俊谊, 等. 黄肉猕猴桃新品种 '农大金猕' [J]. *园艺学报*, 2017, 44(9): 1825-1826.
- [4] 刘艳飞, 王中月, 谢利华, 等. 12 个猕猴桃栽培品种在陕西秦巴山区的引种表现 [J]. *西北农业学报*, 2022, 31(5): 603-611.
- [5] 李为福, 黄兰淇, 宋韵琼, 等. 不同植物生长调节剂及其组合对 '徐香' 猕猴桃果实品质的影响 [J]. *南方园艺*, 2021, 32(5): 14-17.
- [6] BI Y Y, QIAO C K, HAN L J, et al. Key metabolites and mechanistic insights in forchlorfenuron controlling kiwifruit development [J]. *Food Research International*, 2023, 164: 112412.
- [7] 陈双双, 钟 嵘, 黄春辉, 等. 不同浓度氯吡脒对 '东红' 猕猴桃果实品质的影响 [J]. *江西农业大学学报*, 2022, 44(3): 549-559.
- [8] NAZIR N, BANDAY F, SHARMA M, et al. Effect of exogenous application of plant growth regulators on nutritional status of kiwifruit cv. Hayward [J]. *Vegetos*, 2017, 30(4): 62-64.
- [9] WANG Y L, MA B P, LI Y Z, et al. The plant growth regulator 14-OH BR can minimize the application content of cppo in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) 'Donghong' and increase postharvest time without sacrificing the yield [J]. *Processes*, 2022, 10(11): 2345.
- [10] 冯 娇, 侯旭东, 董礼花, 等. GA₃ 与 CPPU 对葡萄果锈相关物质合成及基因表达的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(3): 642-650.
- [11] OLMEDO P, NÚÑEZ-LILLO G, VIDAL J, et al. Proteomic and metabolomic integration reveals the effects of pre-flowering cytokinin applications on central carbon metabolism in table grape berries [J]. *Food Chemistry*, 2023, 411(15): 135498.
- [12] 朱杰丽, 杨 柳, 柴振林, 等. 氯吡脒对 '徐香' 猕猴桃果实品质的影响 [J]. *福建林业科技*, 2014, 41(1): 113-115, 165.
- [13] 赵燕妮, 张 坤, 许牡丹, 等. 基于 GC-MS 代谢组学技术的不同品种猕猴桃果实化学成分差异性研究 [J]. *陕西科技大学学报*, 2022, 40(1): 45-50.
- [14] KRSTIC D, TOSTI T, DUROVIC S, et al. Primary metabolite chromatographic profiling as a tool for chemotaxonomic classification of seeds from berry fruits [J]. *Food Technology and Biotechnology*, 2022, 60(3): 406-417.
- [15] 解 鑫, 谢汉忠, 郭琳琳, 等. 氯吡脒对 '中华 50' 猕猴桃果实品质及食用安全性的影响 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(4): 74-81.
- [16] 龚意辉, 李丽梅, 黄 华, 等. 基于非靶向代谢组学分析黄桃果肉褐变过程中代谢产物的差异 [J]. *中国食品学报*, 2023, 23(2): 265-275.
- [17] 杨兴晶, 刘妍如, 唐志书, 等. 基于主成分分析的青熟酸枣果肉初生及次生代谢产物差异变化的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2022, 34(5): 824-835.
- [18] 郭 佳, 陈 谦, 徐 攀, 等. 基于正交偏最小二乘判别分析 ⁶⁰Co-γ 辐照对羊肚菌采收后低温贮藏品质的影响 [J]. *食品科学*, 2022, 43(21): 315-323.
- [19] 张 琴, 黄世安, 林 欣, 等. 基于 UPLC-MS/MS 的 3 个李品种果实初生代谢物分析 [J]. *食品科学*, 2022, 43(16): 226-234.
- [20] 智 慧, 艾 丹, 吴可心, 等. 基于 GC-MS 代谢组学技术委陵菜与星毛委陵菜的初生代谢比较研究 [J]. *植物研究*, 2020, 40(5): 718-727.
- [21] 刘 铭, 朴一龙, 安 娇, 等. 不同植物生长调节剂对软枣猕猴桃果实无核化及膨大效果研究 [J]. *延边大学农学学报*, 2019, 41(1): 13-17, 23.

(责任编辑:成纾寒)