云南农业大学学报（自然科学），2024，39(3)：116−126 http://xb.ynau.edu.cn
Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science) E-mail: ynauzkxb@foxmail.com

引文格式：龙雪燕, 闫道良, 李万春, 等. 普通油茶种仁发育过程的代谢组学分析[J]. 云南农业大学学报 (自然科学), 2024, 39(3): 116−126. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202305046

普通油茶种仁发育过程的代谢组学分析*

龙雪燕[1]，闫道良[1]，李万春[1]，郑炳松[1**]，胡玉玲[2**]

(1. 浙江农林大学 林业与生物技术学院，省部共建亚热带森林培育国家重点实验室，浙江省森林芳香植物康养功能研究重点实验室，浙江 杭州 311300；2. 湖南应用技术学院 农林科技学院，湖南 常德 415000)

摘要:【目的】了解普通油茶 (*Camellia oleifera*) 果实发育过程中种仁代谢物的变化。【方法】以普通油茶不同发育阶段 (F1~F5) 的种仁为材料，结合液相色谱与质谱联用 (LC-MS/MS) 代谢组学技术，分析普通油茶种仁发育过程中代谢物的变化规律。【结果】共鉴定到 15 类 1 006 种代谢物，主要包括脂类和类脂分子，苯丙素类和聚酮类，有机酸及其衍生物，芳烃类，有机氧化合物，杂环化合物，核苷、核苷酸和类似物；被注释的主要代谢通路包括代谢途径、次生代谢产物的生物合成、植物次生代谢产物的生物合成、氨基酸的生物合成、2-草酸代谢。不同发育时期普通油茶种仁的代谢物有显著差异，F1 和 F2 的种仁代谢物最少，仅有 3-甲基-1-(2,4,6-三羟基苯基)-1-丁酮、L-谷胱甘肽、蔗糖，说明种仁前期缓慢生长；F3 的种仁代谢物最多，尤其是苯丙素类和聚酮类、芳烃类、脂类和类脂分子、有机酸及其衍生物、有机杂环化合物的相对含量变化明显，其中黑色素、酪氨酸、苯丙氨酸、L-谷胱甘肽、1-甲基鸟嘌呤、3,4-二氢-2*H*-1-苯并吡喃-2-酮、(*S*)-匹诺森布林、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷的相对含量较高，说明其在果实快速膨大期种仁成型发挥重要作用；F4 和 F5 的代谢物逐渐减少，种仁进入油脂积累期。【结论】本研究运用代谢组学方法了解普通油茶果实发育过程中种仁代谢物的变化规律，可为普通油茶果优质丰产栽培和适时采收提供理论依据。

关键词: 普通油茶；果实发育进程；种仁；代谢组

中图分类号: S794.401 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004–390X (2024) 03−0116−11

Metabolomics Analysis of the Development Process of *Camellia oleifera* Seed Kernel

LONG Xueyan[1]，YAN Daoliang[1]，LI Wanchun[1]，ZHENG Bingsong[1]，HU Yuling[2]

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Forest Aromatic Plants-based Healthcare Function, School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, China; 2. College of Agriculture and Forestry Science and Technology, Hunan Applied Technology University, Changde 415000, China)

Abstract: ［**Purpose**］To understand the changes of kernel metabolites during the development of *Camellia oleifera* fruits. ［**Methods**］Using different developmental stages of *C. oleifera* kernels as

收稿日期：2023-06-01 修回日期：2024-06-12 网络首发日期：2024-07-05
*基金项目：湖南应用技术学院博士科研启动项目 (2023HYBS01)；常德市经济林生态过程调控与高值化利用工程技术研究中心项目；湖南省油茶产业科研示范项目；湖南省教育厅重点项目 (22A0714，22C1211)；湖南省“十四五”应用特色学科 (林学)(湘教通 [2022]351)。
作者简介：龙雪燕 (1998—)，女，贵州铜仁人，在读硕士研究生，主要从事经济林木发育与栽培生理研究。E-mail：2363078950@qq.com
**通信作者 Corresponding authors：郑炳松 (1972—)，男，浙江龙游人，博士，教授，主要从事林木培育与利用研究。E-mail：bszheng@zafu.edu.cn；胡玉玲 (1977—)，男，浙江温州人，博士，教授，主要从事油茶育种与栽培研究。E-mail：huyulin@126.com
网络首发地址：https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20240705.1149.001

materials, combined with liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS) metabolomics techniques, the metabolic changes of *C. oleifera* kernels during development were analyzed. ［**Results**］A total of 1 006 differential metabolites were identified, belonging 15 categories, mainly including lipids and lipid-like molecules, phenylpropane and polyketones, organic acids and their derivatives, benzenoids, organic oxygen compounds, organoheterocyclic compounds, nucleosides, nucleotides and analogs. The annotated main metabolic pathways included metabolic pathways, biosynthesis of secondary metabolites, biosynthesis of plant secondary metabolites, biosynthesis of amino acids, and metabolism of 2-oxalic acid. There were significant differences in metabolites in the kernels of *C. oleifera* at different developmental stages. F1 and F2 periods had the least metabolites, only including 3-methyl-1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-1-butanone, L-glutathione, and sucrose, indicating slow growth of the kernels in the early stages. In F3 period, there were the largest number of kernel metabolites, especially the relative contents of phenylpropane and polyketones, benzenoids, lipids and lipid molecules, organic acids and their derivatives, and organic heterocyclic compounds changed obviously; the relative contents of melanin, tyrosine, phenylalanine, L-glutathione, 1-methylnenenebc guanine, 3,4-dihydro-2*H*-1-benzopyran-2-one, (*S*)-pinocenbrin, and kaempferol-3-*O*-rutoside were relatively high, indicating that it played an important role in the formation of kernels during the rapid expansion period of fruits. The metabolites in F4 and F5 periods gradually decreased, and the kernel entered the oil accumulation period. ［**Conclusion**］This study uses metabolomics methods to understand the changes in kernel metabolites during the development process of *C. oleifera* fruits, which can provide a theoretical basis for high-quality and high-yield cultivation and timely harvesting of *C. oleifera* fruits.

Keywords: *Camellia oleifera*; development process of fruit; seed kernel; metabolome

油茶是山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia*) 中含油量较高、具有栽培价值植物的总称，是中国特有的木本油料树种，有着悠久的栽培和食用历史[1]。普通油茶 (*C. oleifera*) 通常为常绿小乔木或灌木，是中国目前主要栽培物种，占栽培面积的 90% 以上，因此常把普通油茶称为油茶[2]。普通油茶在中国具有种植区域广、栽培面积大和适应性强的特点，目前已在湖南、江西、贵州、浙江、四川等 14 个省 (区、市) 种植，全国油茶种植面积已超过 4.5×10^7 hm^2，预计未来总面积可达 6.0×10^7 hm^2[3]。油茶籽中富含黄酮类、茶皂素、多酚类、多糖等物质，茶油中富含多种不饱和脂肪酸，故具有较高的食用保健价值[4]。7—8 月是油茶花芽快速生长发育期，也是其果实迅速膨大期，是油茶优质丰产的关键时期；9 月后其果实体积不再增加，转向油脂的积累[5]。7—8 月正值油茶种植区高温、少雨的时期，了解该时期油茶种仁代谢产物的变化可为油茶丰产栽培及油茶品质形成提供科学依据。

目前，代谢组学技术已在油茶果代谢物研究中取得成果。范兴等[6]采用 LC-ESI-MS/MS 技术鉴定了采后置于黑暗条件和白光辐照条件下以及后熟过程中油茶鲜果的代谢物，揭示了光照胁迫下油茶鲜果代谢物的变化规律；贾效成等[7]对海南油茶 (*C. hainanica*) 和普通油茶成熟籽粒代谢物进行鉴定，揭示了品种间的代谢物具有显著差异；叶红莲[8]采用多组学技术探究季节性干旱条件下 3 个品种的油茶果实中种仁代谢物的变化，并在无灌溉条件下分析了不同材料有机覆盖处理的油茶种仁代谢物；张时馨等[9]通过超高效液相色谱—四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术对油茶外种皮、果壳、内种皮和种仁进行代谢物鉴定，共鉴定到 51 种化合物。然而，关于普通油茶果实发育过程中种仁代谢物变化的相关报道较少。本研究采用液相色谱与质谱联用 (LC-MS/MS) 技术对普通油茶果实不同发育时期种仁的代谢物进行鉴定，旨在探明其代谢物的变化规律，为普通油茶果的优质丰产栽培和适时采收提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料及其采样

供试油茶品种为贵州省松桃苗族自治县盘兴镇油茶基地的普通油茶湘林 210，分别在其果实发育的不同阶段，即 6 月 1 日、7 月 17 日、8 月 30 日、9 月 26 日、10 月 20 日 (分别标记为 F1、F2、F3、F4、F5) 选取长势一致、生长健壮的油茶植株，于每棵植株树冠外围东、西、南、北 4 个方向各采集正常生长且发育状况一致的 3 个油茶果实，去掉外果皮和种皮后，用剪刀将其剪成细小颗粒混匀；于每个阶段各称取种仁样品 3~5 g，用锡纸包裹后置于液氮中，备用。每份样品进行 3 个生物学重复。

1.2 代谢物提取

称取液氮研磨后的组织样品 100 mg，加入 50% 甲醇 120 μL，震动充分混匀，提取样品中的代谢物；常温静置 10 min，将提取液置于−20 ℃过夜，沉淀样品中的蛋白质。之后于 4 000 r/min、4 ℃ 条件下离心 20 min，转移上清液 (代谢物提取液) 至 96 孔板，每个样品等量取出 10 μL 混合成质控 (quality control，QC) 样品。

1.3 代谢物高效液相色谱 (LC-MS/MS) 测定

采集时，柱温设置为 35 ℃，流速 0.4 mL/min；流动相 A 相为水 (1% 甲酸)，B 相为乙腈 (1% 甲酸)；液相梯度设置为：0.0~0.5 min，5% B；0.5~7.0 min，5%~100% B；7.0~8.0 min，100% B；8.0~8.1 min，100%~5% B；8.1~10.0 min，5% B。

1.4 代谢物质谱测定

离子源的遮蔽气压为 203.84 kPa，气体 1 (辅气) 和气体 2 (鞘气) 压力均设置为 413.69 kPa；源温度 650 ℃；正离子模式时电压为+5 000 V，负离子模式时电压为−4 500 V。

1.5 数据处理与分析

利用 Proteowizard 的 MSConvert 软件将质谱下机原始数据转换成可读数据格式 (mzXML)；利用 XCMS 软件进行峰提取并进行质控；利用 CAMERA 对提取到的物质进行加和离子注释；利用 metaX 软件进行代谢物鉴定；候选鉴定物质分别利用 HMDB、KEGG 等数据库进行代谢物注释，解释代谢物的物理化学性质和生物功能；利用 metaX 软件对代谢物进行定量，并对代谢物进行主成分分析、相关性分析和聚类分析，并按照差异倍数≥2.0、差异倍数≤0.5 和 P≤0.5 的标准[10]筛选差异代谢物。

2 结果与分析

2.1 普通油茶种仁不同发育阶段的代谢产物

LC-MS/MS 分析结果 (表 1) 显示：从 12 826 个 (阳性和阴性) 离子特征中鉴定到 7 558 种带注释的代谢物；经内部代谢产物片段谱库验证，鉴定到 1 006 种代谢产物。所有种仁的校准总离子色谱图 (图 1) 显示：检测物质的峰重叠良好，说明仪器稳定性好，测试结果可靠，可以进行后续分析。

表 1 普通油茶种仁不同发育阶段的代谢物

Tab. 1 Metabolites of *Camellia oleifera* kernels at different developmental stages

模式 mode	所有代谢物 all metabolites	MS2	HMDB	KEGG	注释代谢物 annotated metabolites
负离子 negative ions	3 069	311	1 371	1 140	1 640
正离子 positive ions	9 757	695	5 194	4 310	5 918

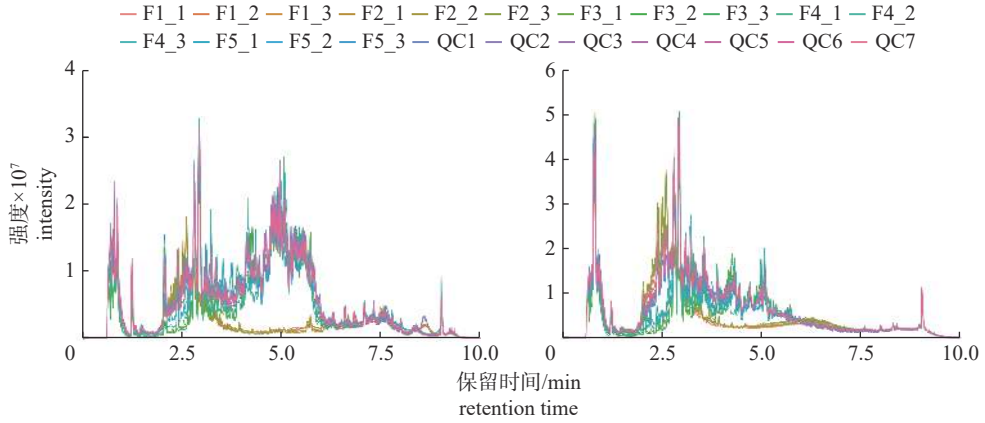
注：MS2. 内部代谢产物片段谱库；HMDB. 人类代谢组数据库；KEGG. 京都基因和基因组百科全书。

Note: MS2. internal metabolite fragment library; HMDB. human metabolome database; KEGG. Kyoto encyclopedia of genes and genomes.

由表 2 可知：普通油茶种仁不同发育阶段的代谢物共 15 类，其中，代谢物含量较高的种类包括：脂类和类脂分子 239 种 (占 23.76%)，苯丙素类和聚酮类 190 种 (占 18.89%)，有机酸及其衍生物 149 种 (占 14.81%)，未知 112 种 (占 11.13%)，芳烃类 91 种 (占 9.05%)，有机氧化合物 84 种 (占 8.35%)，杂环化合物 83 种 (占 8.25%)，核苷、核苷酸和类似物 34 种 (占 3.38%)。

2.2 普通油茶种仁不同发育阶段的差异代谢物

由图 2 可知：2 个主成分解释了 70.57% 的代谢产物谱总方差，普通油茶种仁不同发育阶段的样本明显区分，说明各发育阶段种仁代谢物成分存在差异。F1 和 F2、F4 和 F5 的样本代谢产物距离相近，说明普通油茶种仁前 2 个发育时期之间、后 2 个发育时期之间的代谢产物含量差异较小；F3 样本和其他样本的距离较远，说明该时期代谢物含量与其他时期差异较大。由图 3 可知：普通油茶种仁不同发育时期样本间的相关系数较高，说明普通油茶种仁不同阶段代谢物差异较大，样本重复性良好，试验数据稳定可靠。普通



注：F1~F5. 普通油茶种仁不同发育阶段的样本；QC. 质控样本；下同。

Note: F1-F5. sample of different development stages of *C. oleifera* kernel; QC. sample quality control; the same as below.

图 1　正离子模式 (左) 和负离子模式 (右) 下所有普通油茶种仁样品的总离子色谱图

Fig. 1　Total ion chromatography of all *Camellia oleifera* seed samples in positive ion mode (left) and negative ion mode (right)

表 2　普通油茶种仁不同发育阶段代谢物种类及数量

Tab. 2　Types and number of metabolites in different developmental stages of *C. oleifera* kernels

序号 serial number	代谢物种类 types of metabolites	数量 number	序号 serial number	代谢物种类 types of metabolites	数量 number
1	生物碱和衍生物 alkaloids and derivatives	3	9	有机氮化合物 organic nitrogen compounds	10
2	芳烃类 benzenoids	91	10	有机氧化合物 organic oxygen compounds	84
3	均质非金属化合物 homogeneous non-metal compounds	1	11	杂环化合物 organoheterocyclic compounds	83
4	碳氢化合物 hydrocarbons	2	12	有机氮化合物 organonitrogen compounds	1
5	木脂素、新木脂素及相关化合物 lignans, neolignans and related compounds	5	13	有机硫化合物 organosulfur compounds	2
6	脂类和类脂分子 lipids and lipid-like molecules	239	14	苯丙素类和聚酮类 phenylpropanoids and polyketides	190
7	核苷、核苷酸和类似物 nucleosides, nucleotides, and analogues	34	15	未知 unknown	112
8	有机酸及其衍生物 organic acids and derivatives	149			

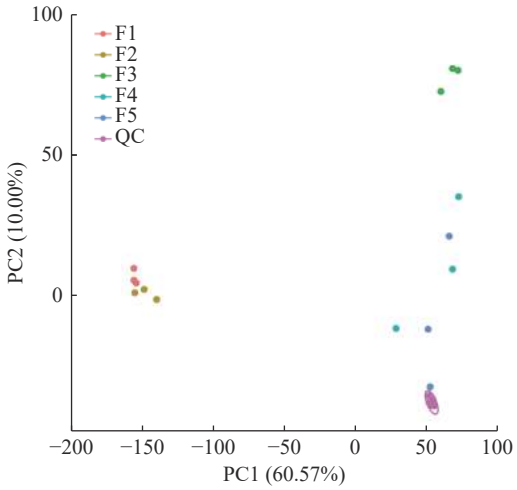


图 2　普通油茶种仁不同发育阶段总样本的主成分分析

Fig. 2　Principal component analysis of total samples at different development stages of *C. oleifera* kernel

油茶种仁不同发育阶段聚类分析结果 (图 4) 显示：F1 和 F2、F4 和 F5 分别聚为一类，F3 单独聚为一类，说明代谢物随着普通油茶种仁发育进程可明显聚为 3 类，不同发育进程代谢物差异变化较大，F3 与 F2 的差异代谢物最丰富；此外，普通油茶种仁中的总体代谢物被聚成多个类别，且不同样本间的表达差异明显，说明可进一步对不同样本间的代谢物进行可靠有效的分析。

2.3　普通油茶种仁不同发育阶段的显著差异代谢物

普通油茶种仁不同发育阶段的代谢物表达水平有显著差异 (图 5)。由表 3 可知：F2 与 F1、F3 与 F2、F4 与 F3、F5 与 F4 在正、负离子模式下差异显著表达的代谢物总数分别为 446、5290、

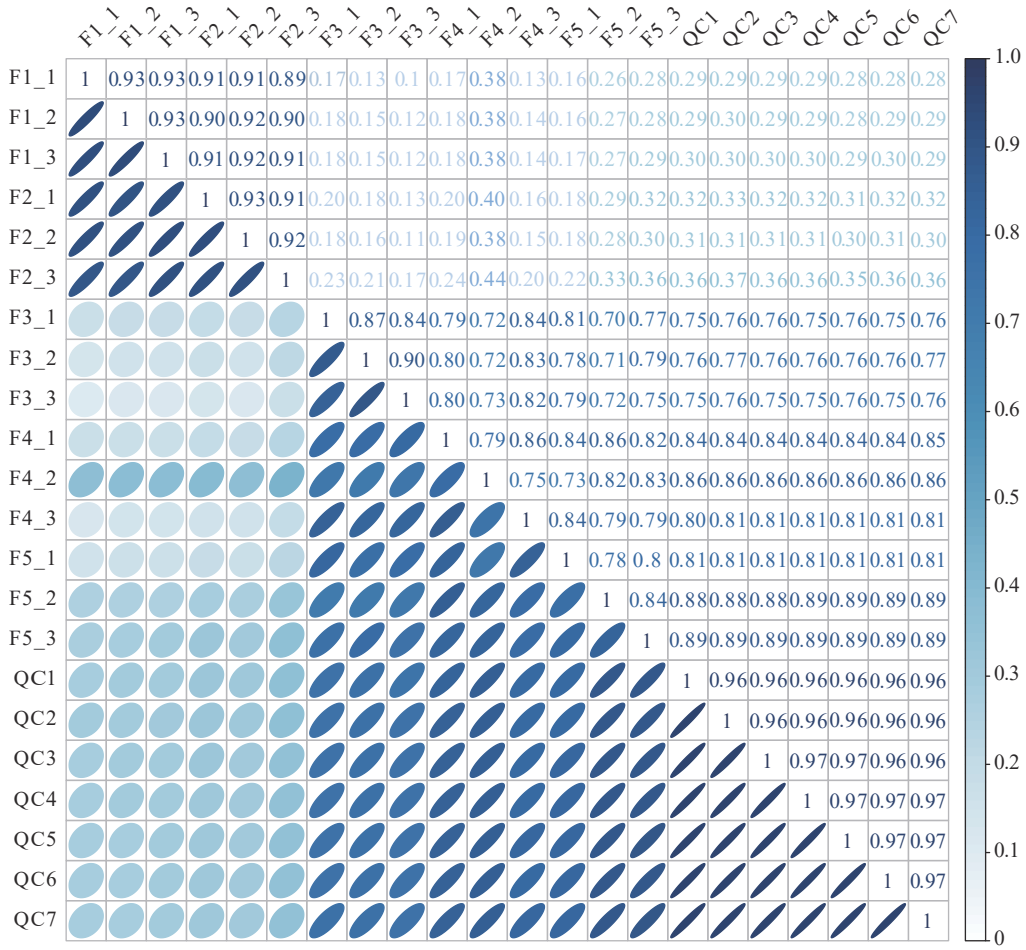


图 3 普通油茶种仁不同发育阶段总样本相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis of total samples at different developmental stages of *C. oleifera* kernels

714 和 216 种。其中，F3 与 F2 的显著差异代谢物最多，2 151 种下调 (占 40.66%)，3 139 种上调 (占 59.34%)；F5 与 F4 的显著差异代谢物最少，有 120 种下调 (占 55.60%)，96 种上调 (占 44.40%)。

由图 6 可知：F2 与 F1、F3 与 F2、F4 与 F3、F5 与 F4 的差异代谢物数量分别为 51、296、60 和 31 种，各差异组间差异特征代谢物数量分别为 20、227、23 和 12 种，仅有 1 种共同差异代谢物。其中，7 月 17 日 (F2)—8 月 30 日 (F3) 的代谢物变化最大，9 月 26 日 (F4)—10 月 20 日 (F5) 的代谢物变化最小，说明 7 月和 8 月是普通油茶果实生长发育旺盛时期，9 月和 10 月普通油茶果实部分生理活动已趋于稳定。可见，普通油茶种仁发育过程代谢物差异变化明显。

2.4 普通油茶种仁不同发育阶段的特征代谢成分

由表 4 可知：在普通油茶种仁发育过程中，主要的特征代谢物种类包括：苯丙素类和聚酮类 (14 种)、芳烃类 (8 种)、脂质和类脂分子 (7 种)、有机酸及其衍生物 (6 种)、杂环化合物 (6 种)。7 月 17 日 (F2) 和 8 月 30 日 (F3) 特征代谢物最多，其次是 9 月 26 日 (F4)，10 月 20 日 (F5) 特征代谢物减少，而 6 月 1 日 (F1) 普通油茶种仁的特征代谢物最少。6 月和 7 月仅检测到 3-甲基-1-(2,4,6-三羟基苯基)-1-丁酮、L-谷胱甘肽、蔗糖。8 月检测到 6 种脂质和类脂分子 [(*S*)-3-羟基丁酸乙酯葡糖苷、(*Z*)-2-甲基-2-丁烯-1,4-二醇 4-*O*-β-D-吡喃葡糖苷、柴胡皂苷 a、(5α)-雄激素-2-烯 17-酮、酪氨酸、21 羟基异玻璃内酯]、4 种有机酸及其衍生物以及 6 种苯丙素类和聚酮类；另外，还有 4 种杂环化合物、2 种芳烃类、3 种有机氧化合物和 1 种未知的代谢物相对含量显著上升，其中，黑色素、酪氨酸、苯丙氨酸、L-谷胱甘肽、1-甲基鸟嘌呤、3,4-二氢-2*H*-1-苯并吡喃-2-酮、(*S*)-匹诺森布林、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷上调

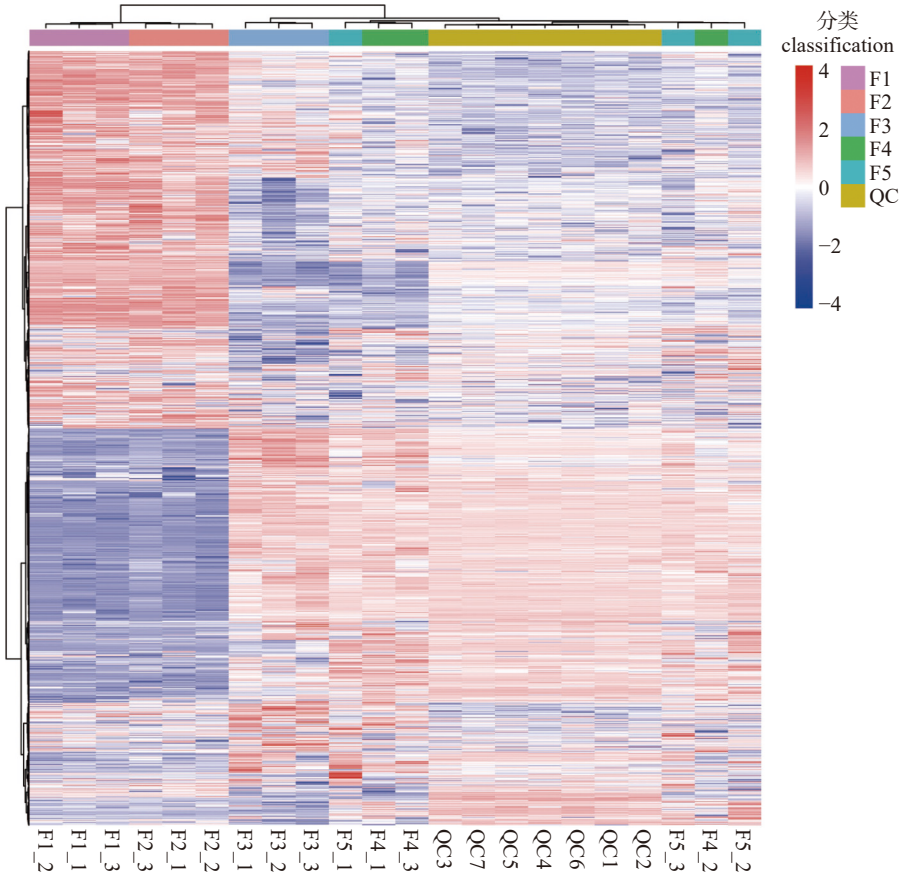


图 4　普通油茶种仁不同发育阶段总样本聚类分析

Fig. 4　Cluster analysis of total samples at different developmental stages of *C. oleifera* kernels

差异倍数较高，分别为 41.96 倍、266.65 倍、116.10 倍、161.22 倍、101.02 倍、53.89 倍、61.65 倍和 62.03 倍。9 月检测到 6 种芳烃类 (4-甲基儿茶酚、4-羟基苯甲酸、龙胆酸、4-苯甲醛、香草酸、没食子酸乙酯)，2 种有机酸及其衍生物，2 种未知的代谢物，1 种木质素、新信号素和相关化合物，1 种脂质和类脂分子，1 种核苷、核苷酸和类似物，1 种有机氧化合物以及 1 种杂环化合物；此外，苯丙素类和聚酮类 (3,4-二氢-2*H*-1-苯并吡喃-2-酮、3′-羟基二氢大豆黄酮、表儿茶素) 的相对含量显著上升。10 月仅检测到 2 种苯丙素类和聚酮类 [(*S*)-匹诺森布林、液化蛋白) 的相对含量显著上升。可见，6 月至 7 月中旬普通油茶种仁缓慢生长，芳烃类、有机酸及其衍生物以及杂环化合物在该时期发挥作用；7 月中旬至 8 月底生长迅速，苯丙素类和聚酮类、芳烃类、脂类和类脂分子、有机酸及其衍生物代谢旺盛，为种仁体积增大提供所需能量；9 月至 10 月下旬种仁以积累干物质和油脂转化为主，该时期种仁平稳生长，代谢物种类减少。

2.5　普通油茶种仁差异代谢物的 KEGG 通路

由图 7 可知：普通油茶种仁不同发育阶段差异代谢物富集最明显的前 5 条代谢通路包括：代谢途径 (map01100)、次生代谢产物的生物合成 (map01110)、植物次生代谢产物的生物合成 (map01060)、氨基酸的生物合成 (map01230)、2-草酸代谢 (map01210)，富集的代谢物分别有 125、76、33、26 和 19 种。这些代谢通路为普通油茶种仁发育不同阶段提供生命活动所必需的化合物。

3　讨论

研究表明：油茶种仁中含有丰富的次生代谢产物，尤其是黄酮类、有机酸类、脂质类和木质素类[11-14]，但目前普通油茶种仁不同发育阶段代谢成分的相关报道较少。本研究利用广泛靶向代谢组学技术对普通油茶种仁进行全面检测，主要检测到脂类和类脂分子，苯丙素类和聚酮类，有

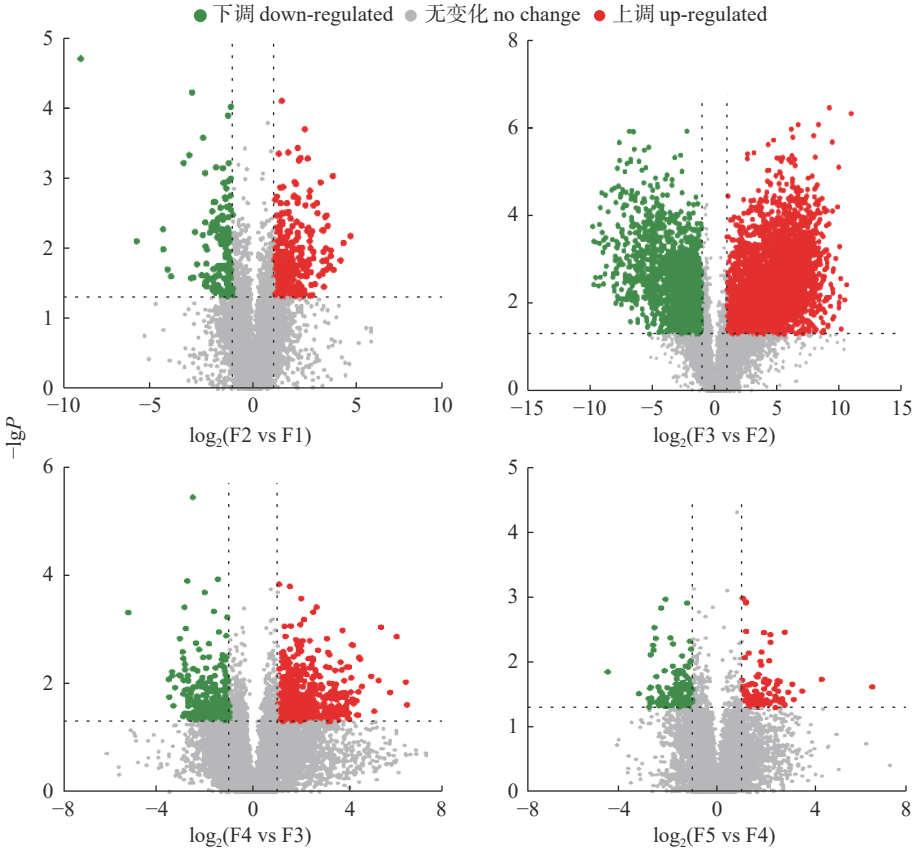


图 5　普通油茶种仁不同发育阶段差异代谢物火山图

Fig. 5　Volcano map of different metabolites in different development stages of *C. oleifera* kernel

表 3　普通油茶种仁不同发育阶段显著差异代谢物

Tab. 3　Metabolites with significant differences in different developmental stages of *C. oleifera* kernels

比较组 comparison group	负离子 negative ions			正离子 positive ions			总差异代谢物 total differential metabolites
	所有代谢物 all metabolites	下调差异代谢物 down-regulated differential metabolites	上调差异代谢物 up-regulated differential metabolites	所有代谢物 all metabolites	下调代差异谢物 down-regulated differential metabolites	上调差异代谢物 up-regulated differential metabolites	
F2 vs F1	2640	54	80	8818	108	204	446
F3 vs F2	2640	471	598	8818	1680	2541	5290
F4 vs F3	2640	78	88	8818	174	374	714
F5 vs F4	2640	35	32	8818	85	64	216

机酸及其衍生物，芳烃类，有机氧化合物，杂环化合物，核苷、核苷酸和类似物等 15 类 1006 种代谢物，其中脂类和类脂分子 (239 种)、苯丙素类和聚酮类 (190 种) 以及有机酸及其衍生物 (149 种) 最多，是普通油茶种仁代谢的基础。本研究的代谢组学分析已鉴定出普通油茶种仁的绝大多数物质成分，为研究其物质代谢途径及调控奠定了基础。

油茶种仁的代谢物变化与油茶果发育进程密切相关，油茶鲜果发育大致可分为 3 个阶段：子房发育、果实体积增大、果实成熟和油脂积累[2]。F1 和 F2 是普通油茶果实子房发育期，检测到 3-甲基-1-(2,4,6-三羟基苯基)-1-丁酮、L-谷胱甘肽和蔗糖，推测其在果实子房发育期发挥重要作用。其中，蔗糖的相对含量在 8 月上升并达到较高水平，为果实的快速形成提供大量能量，也为后期种仁脂类物质的形成和积累提供碳架和能量，这与张凌云等[15]的研究结果相符；L-谷胱甘肽在 F2 之前检测到，且在 F3 (果实快速膨大期) 种仁中的相对表达量较高，符合“还原型谷胱甘肽在果实成熟期表现出较强的抗氧化能力”的结论[16]；而 3-甲基-1-(2,4,6-三羟基苯基)-1-丁酮在种仁发

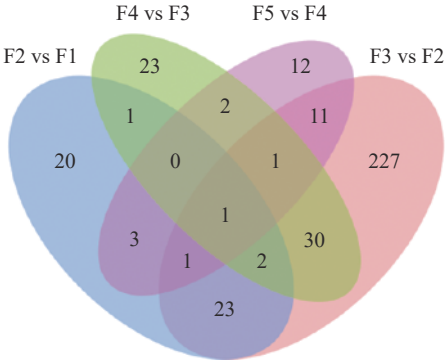


图 6　普通油茶种仁不同发育阶段韦恩图

Fig. 6　Venn map of different developmental stages of *C. oleifera* kernels

育过程中的作用目前还未有相关文献报道。

在 F3 时期，种仁中差异代谢物急剧增加，尤其是脂类和类脂分子 (6 种)、苯丙素类和聚酮类 (6 种)、有机酸及其衍生物 (4 种) 和杂环化合物 (4 种) 的相对含量变化明显，这是因为 7—8 月果实内部基础碳水化合物不断分解并转化为细胞分裂以及形态构建所需的各种成分，代谢旺盛[17]，果实体积迅速增加，内部物质积累增多[18]，油脂快速积累。植物次生代谢物的形成多与植物抗性有关[19]，7、8 月油茶种植区正面临高温少雨的情况，为抵御逆境环境，植物便积累大量次生代谢产物，其中黑色素、酪氨酸、苯丙氨酸、L-谷胱甘肽、1-甲基鸟嘌呤、3,4-二氢-2*H*-1-苯并吡喃-2-酮、(*S*)-匹诺森布林和山柰酚-3-*O*-芸香糖苷的相对含量较高。在发育过程中，种仁颜色从最初的白色透明变为白色，再变为淡黄色，最后变为黑色[16]，黑色素在种子发育中期起重要作用[20]；酪氨酸为大多数动物的半必需氨基酸，能提高茶油的营养价值[21]，苯丙氨酸属于必需氨基酸，在医疗以及茶油口感方面起作用[22]；谷胱甘肽具有抗氧化性，可抵抗外源胁迫、维持细胞内氧化还原平衡等多种生物学功能[23-25]；而 1-甲基鸟嘌呤、3,4-二氢-2*H*-1-苯并吡喃-2-酮、(*S*)-匹诺森布林和山柰酚-3-*O*-芸香糖苷在果实膨大期种仁成型过程中的作用目前还未见相关报道。

在 F4 时期，苯丙素类和聚酮类以及芳烃类

表 4　普通油茶种仁不同发育阶段特征代谢物及差异倍数

Tab. 4　Characteristic metabolites and differential multiples of *C. oleifera* kernels at different developmental stages

	代谢物 metabolite	$\log_2$FC			
		F2 vs F1	F3 vs F2	F4 vs F3	F5 vs F4
芳烃类 benzenoids	4-甲基儿茶酚 4-methylcatechol	—	−0.39	2.09	—
	4-羟基苯甲酸 4-hydroxybenzoic acid	—	−0.36	3.22	−0.43
	龙胆酸 gentisic acid	—	−0.10	6.83	—
	黑色素 melanin	—	41.96	−0.13	—
	4-苯甲醛 4-anisaldehyde	—	6.17	2.46	—
	香草酸 vanillic acid	—	−0.27	10.11	—
	没食子酸乙酯 ethyl gallate	—	−0.21	2.73	—
	3-甲基-1-(2,4,6-三羟基苯基)-1-丁酮 3-methyl-1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-1-butanone	14.18	−0.31	—	—
木质素、新信号素和相关化合物 lignans, neolignans and related compounds	泰拉米定 thalsimidine	—	−0.11	6.23	—
脂质和类脂分子 lipids and lipid-like molecules	柠苹酸 citramalic acid	—	−0.27	2.60	—
	(*S*)-3-羟基丁酸乙酯葡糖苷 ethyl (*S*)-3-hydroxybutyrate glucoside	—	14.79	−0.26	—
	(*Z*)-2-甲基-2-丁烯-1,4-二醇4-*O*-β-D-吡喃葡糖苷 (*Z*)-2-methyl-2-butene-1,4-diol 4-*O*-beta-D-glucopyranoside	—	−10.25	−0.29	—
	柴胡皂苷a saikosaponin a	—	25.50	−0.34	—
	(5α)-雄激素-2-烯17-酮 (5α)-androst-2-en-17-one	—	−0.18	−0.28	—
	酪氨酸 tyromycic acid	—	266.65	−0.36	—
	21羟基异玻璃内酯 21-hydroxyisoglabrolide	—	8.05	—	−0.45
核苷、核苷酸和类似物 nucleosides, nucleotides, and analogues	UDP木糖 UDP-xylose	—	2.86	−0.47	—
	腺苷 adenosine	—	−0.40	—	−0.27
	7-甲基鸟苷 7-methylguanosine	—	29.35	2.19	—

表4 (续)

代谢物 metabolite		log_2FC			
		F2 vs F1	F3 vs F2	F4 vs F3	F5 vs F4
有机酸及其衍生物 organic acids and derivatives	*N*−乙酰-L-苯丙氨酸 *N*−acetyl-L-phenylalanine	—	−0.24	2.77	—
	苯丙氨酸 phenylalanine	—	116.10	—	−0.27
	γ-谷氨酸-半胱-三氟乙酸盐 γ-Glu-Cys-trifluoroacetate	—	7.39	−0.16	—
	色氨酸-谷氨酸 Trp-Glu	—	−0.46	−0.21	—
	甘氨酸, *N*, *N*′-[1,2-乙二基双(氧基-2,1-亚苯基)]双[*N*−[2-[(乙酰氧基)甲氧基]-2-氧乙基]-, 1,1′-双[(乙酰基氧基)甲基]酯 glycine, *N*, *N*′-[1,2-ethanediylbis(oxy-2,1-phenylene)]bis[*N*−[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethyl]-,1,1′-bis[(acetyloxy)methyl] ester	—	2.24	13.26	—
	L-谷胱甘肽 L-glutathione	2.22	161.22	—	—
有机氧化合物 organic oxygen compounds	葡萄糖6-磷酸 glucose 6-phosphate	—	24.07	−0.15	—
	水杨酸β-D-葡糖苷 salicylic acid beta-D-glucoside	—	−0.09	2.51	—
	蔗糖 sucrose	2.19	7.49	—	—
	绿原酸 chlorogenic acid	—	25.02	—	−0.45
杂环化合物 organoheterocyclic compounds	1,3,5-苯三醇 1,3,5-benzenetriol	—	2.70	−0.49	—
	4-羟基喹啉 4-hydroxyquinoline	—	−0.13	4.62	—
	1-甲基鸟嘌呤 1-methylguanine	—	101.02	—	−0.47
	1*H*-吲哚-1-甲酰胺, 6-氯-2,3-二氢-5-甲基-*N*-[6-[(2-甲基-3-吡啶基)氧基]-3-吡啶基]-1*H*-indole-1-carboxamide,6-chloro-2,3-dihydro-5-methyl-*N*-[6-[(2-methyl-3-pyridinyl)oxy]-3-pyridinyl]-	—	−0.20	—	−0.36
	呋喃酮A furanone A	—	2.72	−0.46	—
	原海葵素 protoanemonin	—	3.94	−0.49	—
苯丙素类和聚酮类 phenylpropanoids and polyketides	原花青素C1 procyanidin C1	—	−0.01	—	—
	3,4-二氢-2*H*-1-苯并吡喃-2-酮 3,4-dihydro-2*H*-1-benzopyran-2-one	—	53.89	76.50	−0.16
	3-(2-羟基苯基)丙酸 3-(2-hydroxyphenyl) propionic acid	—	9.89	—	−0.41
	3,4-二甲氧基肉桂酸 3,4-dimethoxycinnamic acid	—	−0.40	—	—
	(*S*) -匹诺森布林 (*S*)-pinocembrin	—	61.15	—	5.83
	3′-羟基二氢大豆黄酮 3′-hydroxydihydrodaidzein	—	−0.16	2.80	—
	2-(3,4-二羟基苯基)-5,7-二羟基-3,4-二氢-2*H*-1-苯并吡喃-4-酮 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3,4-dihydro-2*H*-1-benzopyran-4-one		−0.01	—	−0.50
	表儿茶素 epicatechin	—	−0.06	5.31	—
	槲皮素 quercetin	—	−0.05	—	—
	(*Z*)-*N*−香豆素基-5-羟基邻氨基苯甲酸 (*Z*)-*N*−coumaroyl-5-hydroxyanthranilic acid	—	—	−0.26	—
	液化蛋白 liquiritin	—	7.04	—	4.32
	原花青素A2 procyanidin A2	—	0.00	—	—
	原花青素B2 procyanidin B2	—	−0.05	—	—
	山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 kaempferol-3-*O*-rutinoside	—	62.03	−0.11	—
未知 unknown	5-氨基尿嘧啶 5-aminouracil	—	−0.07	2.84	—
	γ-十二碳内酯 γ-dodecalactone	—	2.69	−0.34	—
	大叶茜草素 mollugin	—	−0.12	5.29	—

注：FC. 差异倍数；—. 未检出。
Note: FC. fold change; —. indicates not detected.

化合物中的较多代谢物相对表达量上升，而 9 月是油脂积累高峰期[26]，说明以上鉴定到的差异代谢物有利于油脂积累。到 F5 时期，果实已成熟，果实中的营养被子叶大量吸收[27]，且油脂积累过程基本完成，种仁中的代谢物种类减少且含量显著降低，因此，油茶果较晚采收会大大降低果实含油量，应适时采收。

普通油茶种仁不同发育阶段代谢物富集最多的前 5 条代谢通路分别为代谢途径、次生代谢产物的生物合成、植物次生代谢产物的生物合成、氨基酸的生物合成、2-草酸代谢。植物发育前期，通过光合作用将二氧化碳和水转化为糖类物质，经初生代谢，以合成并利用糖类、氨基酸类、核酸类和脂肪酸类以及由它们聚合形成的多糖类、蛋白质类、酯类等初生代谢产物，这些产物是植物生命活动必需的化合物，又是植物次生

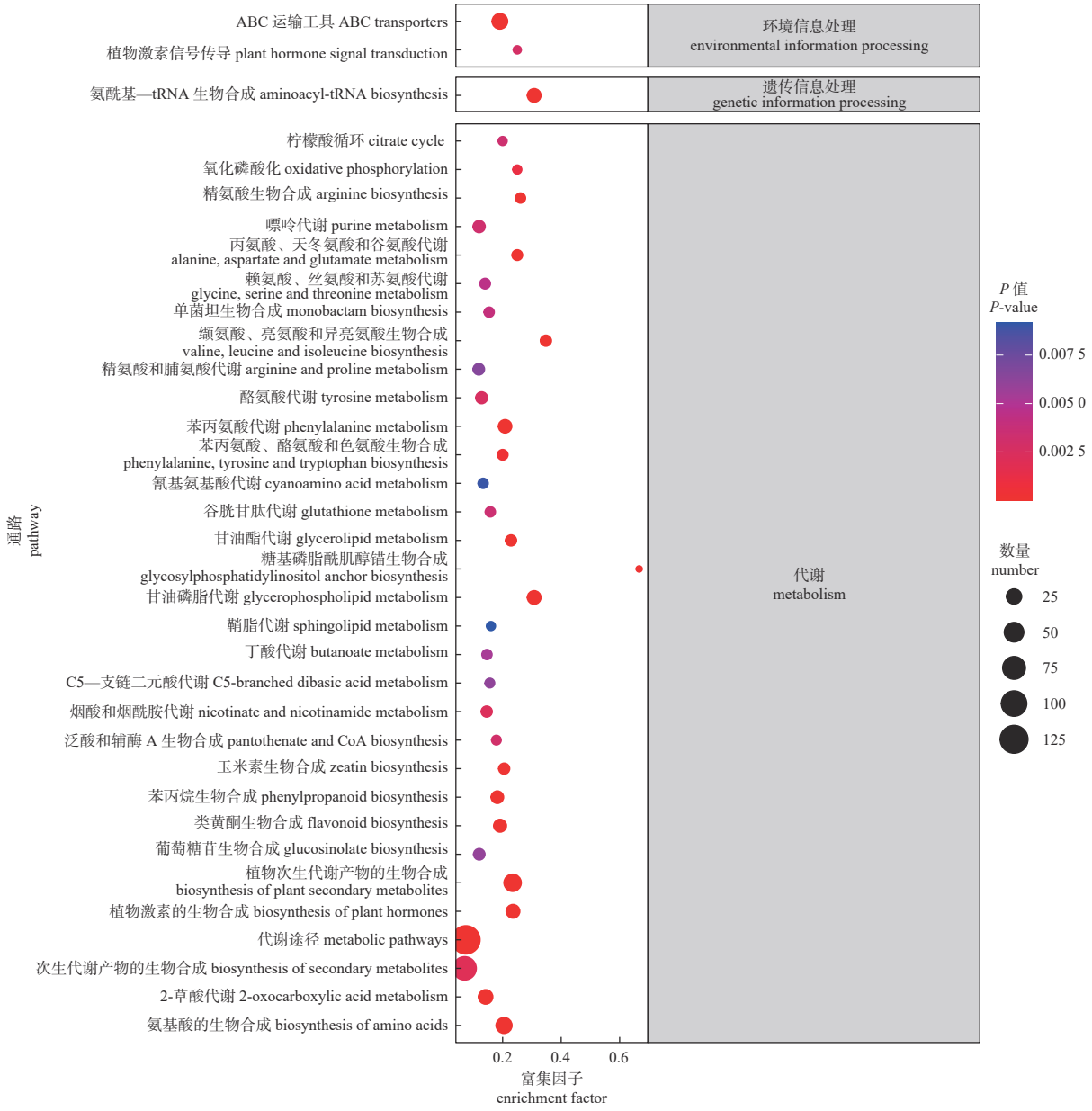


图 7　普通油茶种仁不同发育阶段差异代谢物 KEGG 富集分析

Fig. 7　KEGG enrichment analysis of different metabolites in different developmental stages of *C. oleifera* kernels

代谢产物的前体[28-29]，是普通油茶种仁完成发育的基础。

4　结论

不同发育时期普通油茶种仁中代谢物具有显著差异，F1 和 F2 中种仁代谢物最少，说明种仁前期缓慢生长；F3 中种仁代谢物最多，尤其是苯丙素类和聚酮类、芳烃类、脂类和类脂分子、有机酸及其衍生物、杂环化合物的相对含量变化明显，在果实快速膨大期种仁成型发挥重要作用；F4 到 F5 代谢物逐渐减少，种仁进入干物质积累和油脂积累期。该研究结果为普通油茶果的优质丰产栽培和适时采收提供了理论依据。

[参考文献]

[1] 姚小华, 谭晓风, 陈永忠. 中国油茶品种志[M]. 北京: 中国林业出版社, 2016.

[2] 胡玉玲, 潘忠飞, 龙雪燕, 等. 不同有机肥和大量及微量元素配比对油茶生长及产量相关指标影响[J]. 中国土壤与肥料, 2022(4): 148. DOI: 10.11838/sfsc.1673-6257.21019.

[3] 余绍辉, 曾臻, 傅为一, 等. 湖南省油茶产业高质量发展

的现状分析与对策[J]. 经济林研究, 2019, 37(4): 214. DOI: 10.14067/j.cnki.1003-8981.2019.04.030.
[4] 丁松, 潘鹏, 张邦文, 等. “十二五”期间我国油茶产业发展特征分析[J]. 福建林业科技, 2018, 45(3): 121. DOI: 10.13428/j.cnki.fjlk.2018.03.024.
[5] 张应中, 徐煲铧, 王明怀, 等. 高州油茶果实生长性状与品质的动态变化规律[J]. 林业与环境科学, 2020, 36(1): 47. DOI: 10.3969/j.issn.1006-4427.2020.01.007.
[6] 范兴, 卢燕燕, 吴建文. 基于代谢组学分析光照对油茶鲜果后熟过程代谢物的影响[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(21): 40. DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2022.21.006.
[7] 贾效成, 刘艳菊, 徐玉芬, 等. 海南油茶与普通油茶成熟籽粒代谢组学分析[J]. 分子植物育种, 2022, 20(24): 8255. DOI: 10.13271/j.mpb.020.008255.
[8] 叶红莲. 基于代谢组学探索覆盖对油茶果实产量和品质的影响机制研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2021.
[9] 张时馨, 刘亚娜, 耿阳阳, 等. 基于UPLC-Q-Orbitrap-HRMS分析油茶果不同部位化学成分[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(7): 205. DOI: 10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000019.
[10] 蔡莹莹, 陈星星, 谷风林, 等. 不同加工阶段香草兰豆荚的广泛靶向代谢组学研究[J]. 热带作物学报, 2019, 40(7): 1325. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2019.07.012.
[11] 王溢, 黄润生, 程俊森, 等. 基于UPLC-MS/MS的油茶种仁成分差异分析及其油脂抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2023, 23(8): 329. DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.08.033.
[12] SONG Q L, JI K A, YU X R, et al. Dynamic metabolic and transcriptomic profiling reveal synthetic characters and regulators of flavonoid biosynthesis in *Camellia oleifera* seeds[J]. Industrial Crops and Products, 2022, 186: 115295. DOI: 10.1016/j.indcrop.2022.115295.
[13] XIA T F, XONG Z J, SUN X X, et al. Metabolomic profiles and health-promoting functions of *Camellia drupifera* mature-seeds were revealed relate to their geographical origins using comparative metabolomic analysis and network pharmacology approach[J]. Food Chemistry, 2023, 426: 136619. DOI: 10.1016/j.foodchem.2023.136619.
[14] HAI X, CHEN F L, HANG P Y, et al. Characterization and comparison of lipids in *Camellia oleifera* kernels of XL210 and XL1 based on LC-MS/MS[J]. Reproduction and Breeding, 2021, 1(4): 193. DOI: 10.1016/j.repbre.2021.12.003.
[15] 张凌云, 王小艺, 曹一博. 油茶果实糖含量及代谢相关酶活性与油脂积累关系分析[J]. 北京林业大学学报, 2013, 35(4): 55. DOI: 10.13332/j.1000-1522.2013.04.023.
[16] 代琳, 徐媛媛, 熊博, 等. 黄果柑果实抗坏血酸、谷胱甘肽和有机酸积累特性[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(8): 1341. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1524.2018.08.10.
[17] 张翠芳, 王世伟, 马彬, 等. ‘新新2号’核桃果实发育进程中碳水化合物积累与变化[J]. 北方园艺, 2019(21): 13. DOI: 10.11937/bfyy.20190599.
[18] 曾燕如, 黎章矩, 戴文圣. 油茶开花习性的观察研究[J]. 浙江林学院学报, 2009, 26(6): 802. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0756.2009.06.007.
[19] 刘淑娟. 植物次生代谢物的分布及其应用[J]. 泰山学院学报, 2003, 25(6): 91. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2590.2003.06.024.
[20] 罗明亮, 唐章林, 刘子瑜. 黄籽和黑籽羽衣甘蓝种皮特性比较研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(4): 1199. DOI: 10.16213/j.cnki.scjas.2010.04.056.
[21] 温娟, 许剑锋, 龙艳, 等. 油菜籽半必需氨基酸含量的种子胚和母体植株QTL定位与分析[J]. 作物学报, 2015, 41(1): 57. DOI: 10.3724/SP.J.1006.2015.00057.
[22] 贺鹏, 张涛, 宋海云, 等. 广西澳洲坚果果实品质分析与综合评价[J]. 食品科学, 2021, 42(24): 242. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20201128-295.
[23] 罗银玲, 宋松泉, 兰芹英. 酶促和非酶促抗氧化系统在玉米胚脱水耐性获得中的作用[J]. 云南植物研究, 2009, 31(3): 253. DOI: 10.3969/j.issn.1003-1650.2017.06.094.
[24] WINTERBOURN C C. Revisiting the reactions of superoxide with glutathione and other thiols[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2016, 595(116): 68. DOI: 10.1016/j.abb.2015.11.028.
[25] 聂文婧, 王硕硕, 荆鑫, 等. 外源表油菜素内酯对$NaHCO_3$胁迫下黄瓜幼苗生长及氧化还原平衡的影响[J]. 应用生态学报, 2018, 29(3): 899. DOI: 10.13287/j.1001-9332.201803.024.
[26] 马力, 陈永忠, 钟海雁, 等. 油茶籽在成熟过程中化学成分的积累动态[J]. 中南林业科技大学学报, 2019, 39(3): 47. DOI: 10.14067/j.cnki.1673-923x.2019.03.008.
[27] 于钊妍, 刘艳菊, 徐玉芬, 等. 油茶生殖生物学及杂交育种研究进展[J]. 热带农业科学, 2022, 42(11): 44. DOI: 10.12008/j.issn.1009-2196.2022.11.009.
[28] 孙立影, 于志晶, 李海云, 等. 植物次生代谢物研究进展[J]. 吉林农业科学, 2009, 34(4): 4. DOI: 10.16423/j.cnki.1003-8701.2009.04.001.
[29] 黄佑国, 施蕊, 李彪, 等. 林下三七不同部位黄酮类物质差异分析[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2023, 43(2): 69. DOI: 10.11929/j.swfu.202204064.

责任编辑：何謦成