

张丽梅, 陈钟佃, 张朝坤, 等. 8 个番石榴品种的转录组测序 [J]. 福建农业学报, 2021, 36 (11): 1315-1322.
ZHANG L M, CHEN Z D, ZHANG C K, et al. Transcriptome Sequencing on Eight *Psidium guajava* Cultivars [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36 (11): 1315-1322.

8 个番石榴品种的转录组测序

张丽梅¹, 陈钟佃², 张朝坤³, 魏秀清¹, 许家辉^{1*}

(1. 福建省农业科学院果树研究所, 福建 福州 350013; 2. 福建省农业科学院农业生态研究所, 福建 福州 350013; 3. 福建省漳州市农业科学研究所, 福建 漳州 363000)

摘 要:【目的】获得番石榴转录本数据, 探讨不同番石榴品种转录本之间差异。【方法】研究通过 Illumina HiSeq 2500 平台对红心 (HX)、彩虹 (CH)、紫红 (ZH)、水晶 (SJ)、秀珍 (XZ)、彩叶变 (CYB)、彩叶 (CY) 和紫星 (ZX) 等 8 个番石榴品种的 8~9 成熟果肉进行转录组测序, 通过组装及数据库比对, 获得大量番石榴转录本注释信息。【结果】组装获得了 126 979 条 Unigene, 平均长度 766 bp, N₅₀ 为 1 654 bp, N₉₀ 为 267 bp; 8 个番石榴品种间共有 27 274 个基因为共表达基因。通过主成分分析与差异基因表达聚类分析, 发现品种水晶 (SJ) 和彩叶变 (CYB) 之间基因功能表达差异较小, 品种紫红 (ZH) 与其他品种之间基因表达差异较大。聚类分析将品种水晶 (SJ) 和彩叶变 (CYB) 聚为一类, 品种红心 (HX)、彩虹 (CH)、秀珍 (XZ)、彩叶 (CY)、紫星 (ZX) 归为一类, 但品种紫红 (ZH) 与其他品种间距离较远。【结论】本研究结果为后续番石榴种质资源分类、功能基因表达、功能基因鉴定提供了大量可靠的转录组数据。

关键词: 番石榴; 转录组; 测序; 功能注释

中图分类号: S 667

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2021) 11-1315-08

Transcriptome Sequencing on Eight *Psidium guajava* Cultivars

ZHANG Limei¹, CHEN Zhongdian², ZHANG Chaokun³, WEI Xiuqing¹, XU Jiahui^{1*}

(1. Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China; 2. Agricultural Ecology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China; 3. Zhangzhou Institute of Agricultural Sciences of Fujian Province, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

Abstract:【Objective】Transcriptomes of different guava cultivars were obtained for comparison.【Methods】Transcriptome sequencing by Illumina Hwaseq 2 500 was conducted on 8-9 mature fruit pulp from 8 varieties of *Psidium guajava* Linn, namely Red Heart (HX), Rainbow (CH), Purplish Red (ZH), Crystal (SJ), Shuzhen (XZ), Colored-leaf B (CYB), Colored-leaf (CY), and Purple Star (ZX).【Results】By comparing to the database, 126 979 Unigenes of an average length of 766 bp with a N₅₀ of 1 654 bp and a N₉₀ of 267 bp were identified. There were 27 274 genes co-expressed in the 8 cultivars. The PCA and differential gene expression cluster analyses showed that the differences on the function expressions between the genes of SJ and CYB was less than those between ZH and other cultivars. SJ and CYB were clustered in a category and HX, CH, XZ, CY, and ZX in a different category, while ZH significantly differentiated from the other cultivars.【Conclusion】The substantial amount of transcription data secured from this study could be useful for the classification as well as the expression and identification of functional genes of guava germplasms.

Key words: *Psidium guajava* Linn.; transcriptome; sequencing; functional annotation

收稿日期: 2021-06-27 初稿; 2021-12-08 修改稿

作者简介: 张丽梅 (1974-), 女, 副研究员, 研究方向: 果树栽培、生理生化与分子技术 (E-mail: lm155195@sina.com)

* 通信作者: 许家辉 (1971-), 男, 硕士, 研究员, 研究方向: 果树育种、栽培及生理生化 (E-mail: xjhui577@163.com)

基金项目: 福建省农业科学院科技创新团队项目 (CXTD2021008-2); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项项目 (1630032020013); 福建省科技计划区域发展项目 (2016N3021)

0 引言

【研究意义】番石榴 (*Psidium guajava* Linn.) 原产于南美洲大陆, 广泛栽植于热带亚热带地区, 在我国华南各地也均有栽培, 是重要的药食同源植物。番石榴营养丰富, 风味独特, 在水果市场特别是饮料市场上占有重要的地位, 近年来市场对番石榴果汁的需求量也在快速增长。同时, 番石榴作为传统药用植物在美洲、非洲和亚洲等地被用于治疗腹泻、痢疾和皮炎等疾病^[1]。番石榴中大量的酚类、类胡萝卜素、萜类和三萜类等已经被证实具有抗氧化^[2]、保肝^[3,4]、抗过敏^[5]、抗菌^[6,7]、抗细胞毒性^[8,9]、抗龋齿^[10,11]、抗糖尿病^[12,12]、抗炎症^[13]等用途, 并且已经广泛应用到临床。【前人研究进展】目前对于番石榴的研究多集中在采后生理^[14-17]、内含物萃取^[18-20]、药用价值^[21]以及果汁产品的开发^[22,23]等方面。【本研究切入点】关于番石榴植株本身营养成分富集和有效药用成分积累的机理和相关功能基因的研究还鲜见报道。在美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information) 数据库中番石榴仅有 132 个基因和 84 个蛋白质信息, 这极大地阻碍了番石榴生物技术相关研究的开展。因此, 通过高通量测序平台获得番石榴转录组信息, 可以为番石榴后续功能基因的鉴定提供参考。【拟解决的关键问题】本试验通过 Illumina HiSeq 2500 高通量测序平台对 8 个番石榴品种进行转录组测序, 利用公共数据库对测序结果进行生物信息学分析, 旨在为番石榴酚类、萜类、多糖类等生物合成途径功能基因的开发奠定基础。利用高通量测序分析 8 个番石榴种质资源之间的基因表达情况, 通过生物信息学分析找寻其内在联系, 同时为番石榴分子机制相关研究提供丰富的数据资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验 8 个番石榴 (*Psidium guajava* Linn.) 品种果实来源于福建省农业科学院果树研究所, 包括红心 (HX)、彩虹 (CH)、紫红 (ZH)、水晶 (SJ)、秀珍 (XZ)、彩叶变 (CYB)、彩叶 (CY) 和紫星 (ZX) 等。8~9 分成熟果实采摘, 洗净晾干切块装入冻存管, 投入液氮保存备用。液氮保存的样品交由杭州祥音生物医药科技有限公司进行文库构建及测序。

1.2 番石榴文库构建及转录组测序

采用 Trizol 法分别提取总 RNA, 分别采用 Nanodrop、Qubit 2.0、Aglient 2100 方法检测 RNA 样

品的纯度、浓度和完整性等。用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集真核生物 mRNA, 加入 Fragmentation Buffer 将 mRNA 进行随机打断, 以 mRNA 为模板, 用六碱基随机引物 (Random hexamers) 合成第一条 cDNA 链, 加入缓冲液、dNTPs、RNase H 和 DNA polymerase I 合成第二条 cDNA 链, 利用 AMPure XP beads 纯化 cDNA。纯化的双链 cDNA 再进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头, AMPure XP beads 进行片段大小选择, 最后通过 PCR 富集得到 cDNA 文库。

通过 Illumina HiSeq 2500 测序平台和 PE125 测序方法对番石榴构建转录组文库后进行测序, 测序得到的原始图像数据经 base calling 转化为原始数据 (Raw reads), 使用 FastQC 软件对原始数据进行质量评估。Trimmomatic 软件^[24]质量剪切获得 Clean 数据。最后利用 Trinity 软件^[25] *de novo* 组装成转录本, 统计所得转录本的各项信息。

1.3 番石榴基因功能注释

使用 NCBI Blast+软件^[26]将转录本与保守结构域数据库 CDD (Conserved domain database)、真核生物蛋白质同源数据库 KOG (Karyotic ortholog groups)、蛋白质直系同源数据库 COG (Cluster of orthologous groups)、非冗余蛋白数据库 NR (Non-redundant protein database)、核酸序列数据库 NT (NCBI nucleotide sequences)、蛋白质结构域数据库 PFAM (Protein family database)、蛋白质序列数据库 Swiss-Prot (A manually annotated and reviewed protein sequence database)、Swiss-Prot 增补本 TrEMBL 数据库等多个数据库进行比对, 得到转录本的注释信息。根据转录本与 Swissprot、TrEMBL 的注释结果得到基因本体论数据库 GO (Gene ontology) 功能注释信息。利用 KAAS 软件得到转录本在东京基因与基因组百科全书数据库 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 注释信息。根据转录本与数据库 Blast 比对结果和 TransDecoder 软件进行 CDS 预测。

1.4 番石榴 RNA-seq 测序质量评估

使用 Bowtie 2 软件^[27]将样本有效数据比对到拼接所得的转录本上, 统计 Mapping 信息。利用 RSeQC 软件^[28]根据比对结果进行冗余序列分析、插入片段分布等分析。BEDTools^[29]进行均一性分布检查和基因覆盖率统计分析。

1.5 基因表达及基因富集分析

使用 Salmon^[30]和 WGCNA^[31]分别进行基因的表达量计算和基因共表达分析。基于样本的表达量矩阵进行样本比较分析等多方向的统计分析和探索。使用 DESeq2^[32]进行基因表达差异分析, 对表达差异

分析结果进行可视化。基于差异分析结果，绘制基因功能表达韦恩图、样本间距离热图，并进行主成分分析（Principle component analysis, PCA）。使用 topGO 进行 GO 富集分析。使用 clusterProfiler^[33] 进行 KEGG 通路和 KOG 分类富集分析。

2 结果与分析

2.1 番石榴 RNA-seq 测序结果与数据组装

2.1.1 RNA-seq 测序质量评估 8 个品种的总碱基数为 5 184 950 713~8 029 343 436 bp，平均 7 014 638 271 bp。Read 均长为 144~146 bp，平均 145 bp；GC 含量为 49.98%~51.23%，平均 50.48%；Q₃₀ 为 95.31%~95.96%，平均 50.48%（表 1）。可见，所获得的转录组质量较高。

2.1.2 RNA-seq 测序数据组装 组装共获得 283 853 条 Transcript。总序列信息达 388 691 331 bp（0.39 Gb），平均长度 1 369 bp，Transcript 的 N₅₀ 为 2 517 bp，N₉₀ 为 579 bp。其中长度为 200~300、300~500、500~1 000、1 000~2 000、≥2 000 bp 分别占 23.31%、15.92%、16.20%、19.73%、24.83%。所得 Transcript 序列再次组装后得到 126 979 条 Unigene，Unigene 总序列信息达 97 373 299 bp（97.37 Mb），平均长度 766 bp，各长度分布图如图 1 所示长度为 200~300、

表 1 样本质量控制数据统计				
Table 1 Statistics on quality control data of samples				
品种 Cultivars	总碱基数 Number of bases/bp	Reads/bp	Q ₃₀ /%	GC/%
红心HX	7 123 935 342	145	95.96	49.98
彩虹CH	8 029 343 436	144	95.47	50.68
紫红ZH	6 300 972 075	145	95.57	50.10
水晶SJ	7 681 478 290	145	95.60	51.23
秀珍XZ	5 184 950 713	144	95.31	50.27
彩叶变CYB	7 824 848 106	146	95.82	50.65
彩叶CY	7 607 494 989	144	95.35	50.44
紫星ZX	6 364 083 214	144	95.50	50.49

300~500、500~1 000、1 000~2 000、≥2 000 bp 分别占 42.81%、23.23%、14.56%、9.40%、9.99%。Unigene 的 N₅₀ 为 1 654 bp，N₉₀ 为 267 bp，组装完整性较高。番石榴转录组测序结果的 isoform 分析表明 100 373 个 Unigene 含有 1 个 isoform，占比 79.05%；含有 2 个 isoforms 的数量次之，共 8 109 个 Unigene，占比 6.39%；含有 3 个及以上 isoforms 的 Unigene 共有 18 497 个，占比 14.57%。

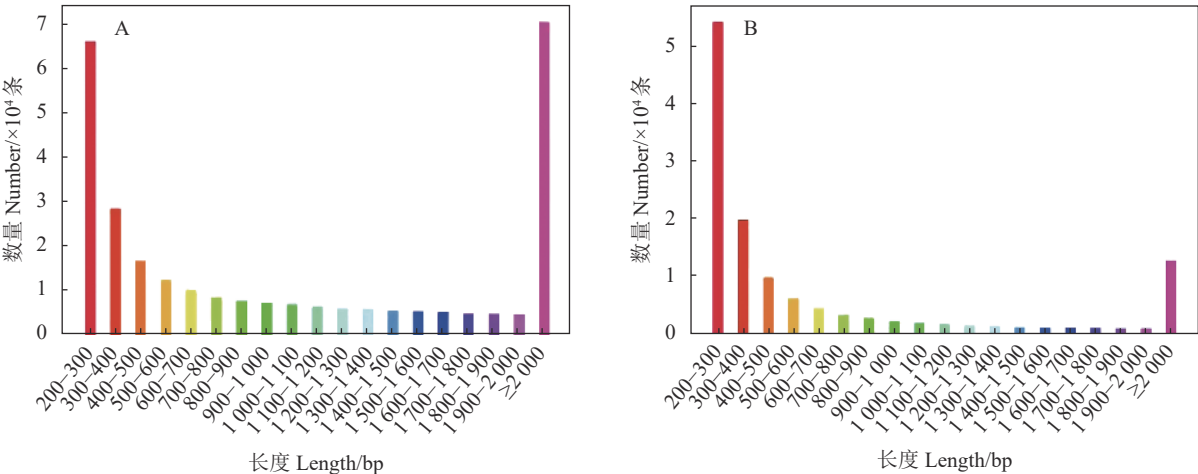


图 1 Transcript (A) 和 Unigene (B) 长度分布
Fig. 1 Distributions of transcript length (A) and Unigene length (B)

2.1.3 SSR 与 SNP 分析 8 个番石榴品种含有 SSR 位点的 Unigene 共 30 265 个，其中含有单碱基重复（p1）类型的 Unigene 最多，共 15 432 个，占总数的 50.99%；双碱基重复（p2）类型的 Unigene 共 7 614 个，三碱基重复（p3）类型的 Unigene 有 3 846 个，四碱基重复（p4）类型的 Unigene 共 314 个，五碱基重复（p5）类型的 Unigene 共 104 个，六碱基重复

（p6）类型的 Unigene 共 68 个。含有至少 2 个 SSR 位点的 Unigene 共 2 887 个，含有至少 2 个位点且存在共用碱基的类型有 172 个。
8 个番石榴品种发生单核苷酸变异的基因个数在 42 941~77 098，发生片段插入或片段缺失的基因个数在 13 780~18 435。其中 HX 发生变异数量最多，SJ 发生变异数量最少。

2.2 番石榴 Unigene 功能注释

2.2.1 NR 数据库比对注释 共有 82 283 个 Unigene 被注释到 NR 数据库 (图 2), 占有基因数目的 64.8%。NR 功能注释匹配的物种中 26 007 个 Unigene (31.63%) 与巨桉 (*Eucalyptus grandis*) 得到匹配, 与番石榴同为桃金娘科 (Myrtaceae Juss.)。其中 E 值小于 $1E-150$ 的 Unigene 有 9 066 个 (11.03%),

E 值介于 $1E-100$ 到 $1E-150$ 之间的 Unigene 有 5 516 个 (6.71%), E 值介于 $1E-50$ 到 $1E-100$ 的 Unigene 有 12 782 个 (15.54%), E 值介于 $1E-5$ 到 $1E-50$ 的 Unigene 有 54 905 个 (66.77%)。匹配序列相似度 80% 以上的 Unigene 有 50 798 个 (61.78%), 相似度 40%~80% 的 Unigene 有 30 860 个 (37.53%), 相似度低于 40% 的 Unigene 有 625 个 (0.76%)。

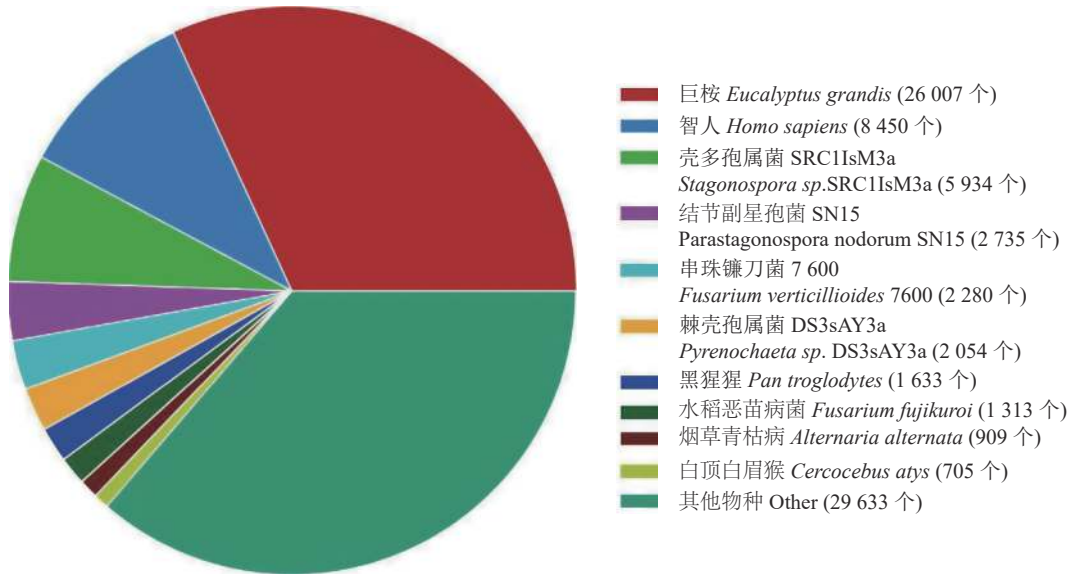


图 2 番石榴 Unigene NR 数据库注释分析

Fig. 2 Annotation of NR database on guava Unigenes

2.2.2 GO 功能分类 GO 功能分类注释结果 (图 3): 21 414 个 Unigene 被分为 3 个本体 71 个功能组, 共

计 787 311 个 GO 条目。其中 222 806 个 GO 条目被分类到细胞组分的 22 个功能组中, 细胞 (55 714

基因功能分类 Gene function classification (Go)

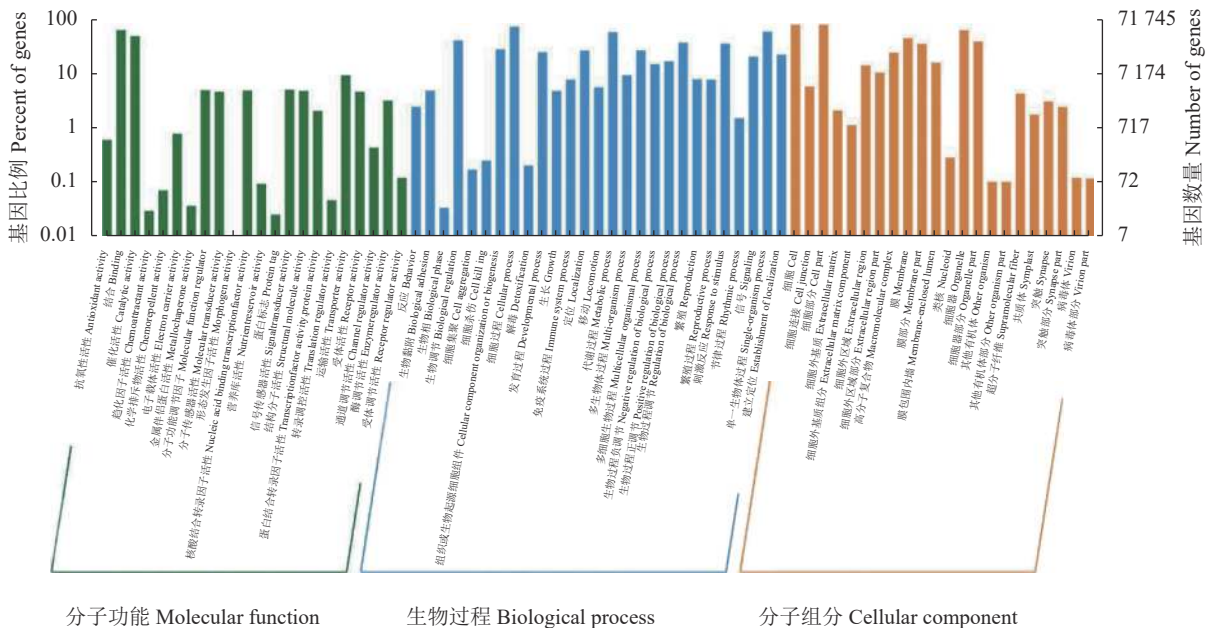


图 3 番石榴 Unigene Go 分类

Fig. 3 GO functional classification of guava Unigenes

个, 18.62%)、细胞部分 (55 636 个, 18.59%)、细胞器 (44 023 个, 14.71%) 和膜 (31 509 个, 10.53%) 功能组中涉及的 Unigene 较多; 185 476 个 GO 条目分类到 22 个分子功能组, 其中结合活性 (44 261 个, 40.00%) 和催化活性 (34 292 个, 30.99%) 功能组中涉及的 Unigene 较多; 374 139 个 GO 条目被分类到 27 个生物学过程功能组, 细胞进程 (51 000 个, 13.51%)、单一生物进程 (41 616 个, 11.03%) 以及代谢进程 (40 882 个, 10.83%) 功能组中涉及的 Unigene 较多。

2.2.3 KOG 功能分类 将番石榴 Unigene 与 KOG 数据库进行比对 (图 4), 并对其结果进行功能分类统计其中信号转导机制注释到最多, 共计 5 577 个, 占比 15.72%; 其次是一般功能预测 3 726 个, 占比 10.50%; 以及翻译后修饰、蛋白折叠和分子伴侣 3 072 个, 占比 8.66%。

2.2.4 KEGG 功能分类 番石榴 7 236 个 Unigene 在 KEGG 数据库中的比对结果如图 5 所示。306 个代谢途径中得到注释, 其中核糖体途径 (ko03010, Ribosome) 被注释到 500 个 Unigene, 氨基酸生物合成途径 (ko01230, Biosynthesis of amino acids) 注释到 264 个 Unigene, 碳代谢途径 (ko01200, Carbon metabolism) 注释到 260 个 Unigene。

2.3 番石榴 PCA 主成分与相关性及聚类分析

通过 R 包 *vegan* 构建番石榴 8 个品种间的 PCA 分析结果如图 6 所示。SJ 和 CYB 在 PCA 3D 中直线距离均为最短, 表明其主成分相似性最高; 而品种 CH 和 CY 在两个 3D 图中距离均较远, 表明其主成分之间相似性不高; 在 PCoA 3D 中品种之间被分成 4 个区域, ZX、HX、XZ、和 CH 之间距离较近

分布在一个区域, SJ 和 CYB 分布在一侧, 而品种 CY 和 ZH 距离前 2 个区域的品种距离较远, 被划分到不同区域。

使用统计算法 *bray curtis* 计算样本间距离, 然后进行层次聚类 (Hierarchical clustering) 分析, 构建树状结构, 得到树状关系形式用于可视化分析。通过 R 包 *gplots* 构建番石榴样本间距离热图 (图 7), 8 个样品间距离分布在 0.21~0.52; 其中 SJ 和 CYB 归为一类, 两者间距离为 0.3; 其余 6 个品种归为一类, 但品种 ZH 与所有品种的距离在 0.37~0.49, 距离较远; 而 HX、CH、XZ、ZX 和 CY 等 5 个品种的距离在 0.21~0.29, 距离较近, 相似度较高。

2.4 番石榴品种间基因共表达分析

使用 R 包 *VennDiagram* 对 8 个番石榴品种共有的和独有的表达基因 (TPM > 0) 的数目进行 VENN 图绘制 (图 8), 直观的展现出样本中的表达基因数目组成相似性及重叠情况。8 个番石榴品种含有 27 274 个基因为共有的表达基因, 而非重叠区表示不同样本之间特有的表达基因数。8 个品种的特有表达基因数为 1 197 (SJ)~5 128 (CH)。

2.5 番石榴 8 个品种间基因表达差异统计分析

8 个番石榴品种进行基因差异表达分析结果 (表 2) 表明: 上调表达基因数为 1 994 (CYB vs CY)~13 355 (CH vs HX), 平均数为 4 451; 下调表达基因数为 1 896 (CH vs HX)~11 471 (SJ vs ZH) 之间, 平均数为 6 898; 非差异基因数为 109 549 (SJ vs ZH)~118 012 (CYB vs CY), 平均数 115 629。KEGG 富集途径分析表明: 仅 HX vs SJ 未富集核糖体途径, 其余组别均富集该途径; 仅 HX vs CH 未富集碳代谢途径; 仅 ZH vs ZX 及 HX vs CH 未富集氨

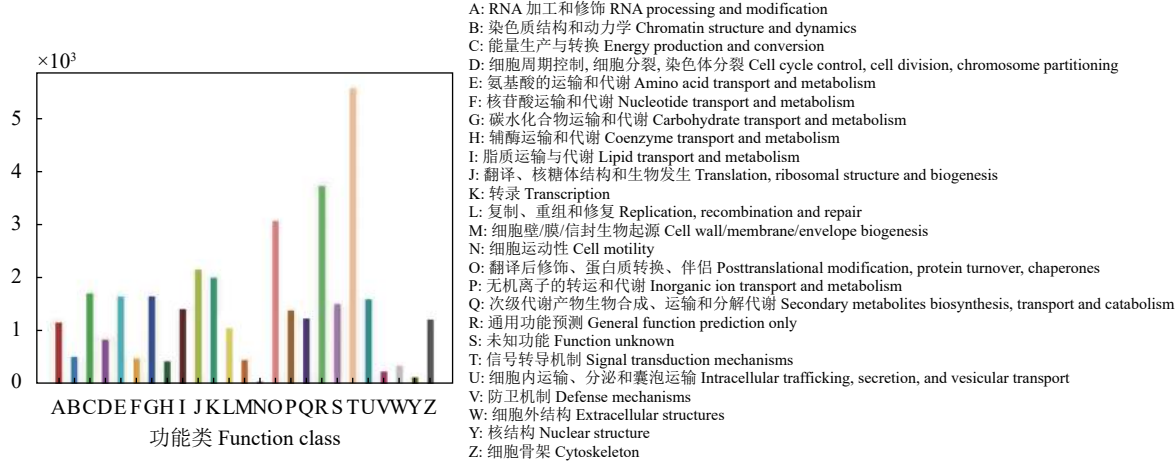


图 4 番石榴 Unigene 的 KOG 数据库分类
Fig. 4 KOG classification of guava Unigenes

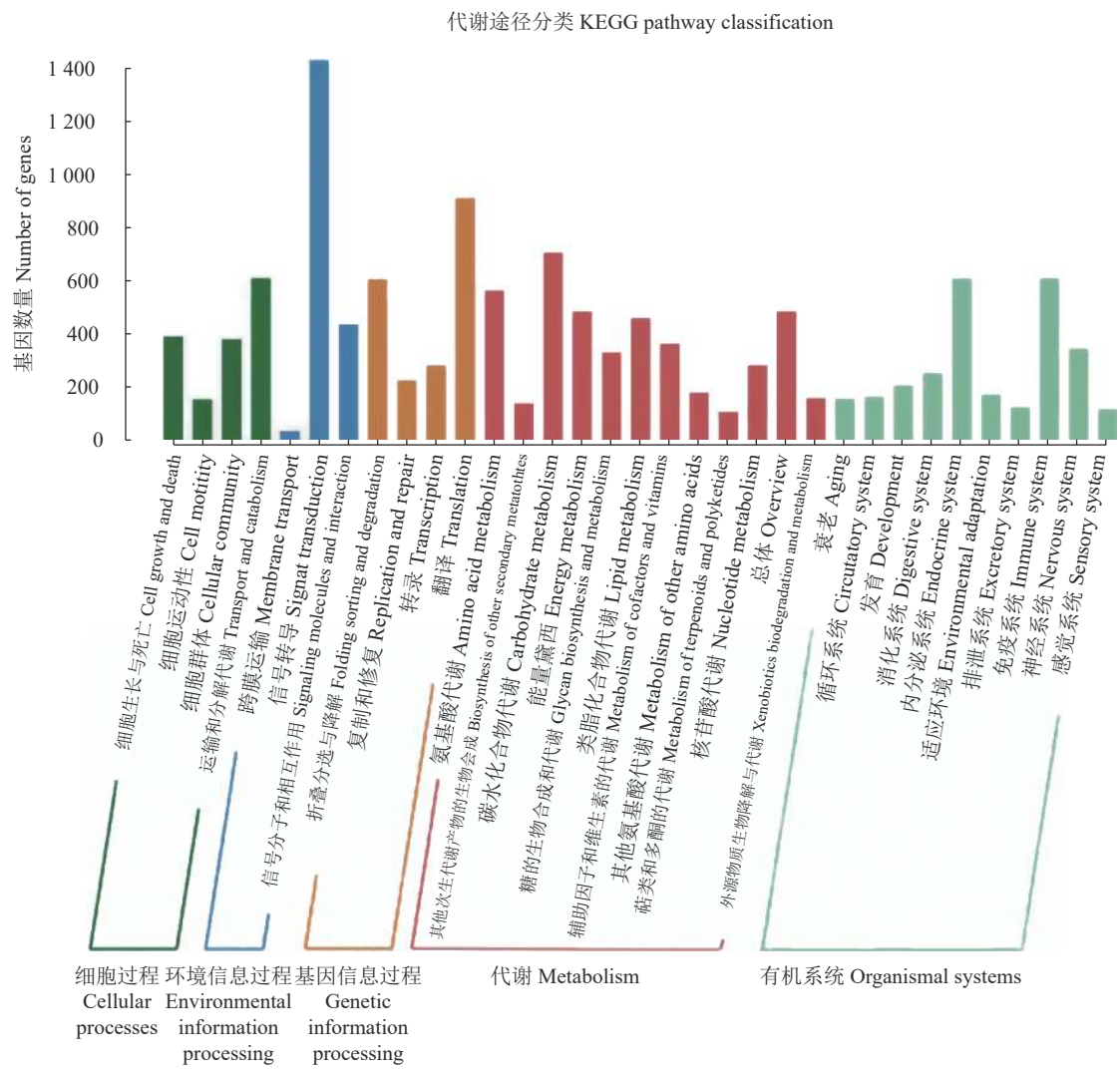


图 5 番石榴 Unigene 的 KEGG 数据库分类
Fig. 5 KEGG classification of guava Unigenes

氨基酸生物合成途径；仅 HX vs SJ 及 ZH vs ZX 富集淀粉和蔗糖代谢途径。

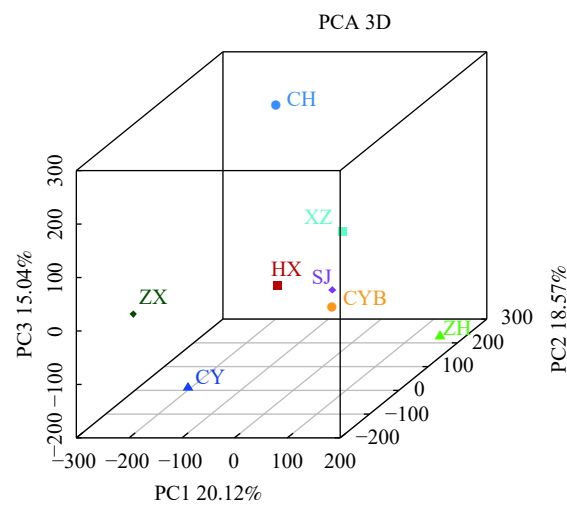


图 6 番石榴 PCA 主成分分析
Fig. 6 PCA on guava

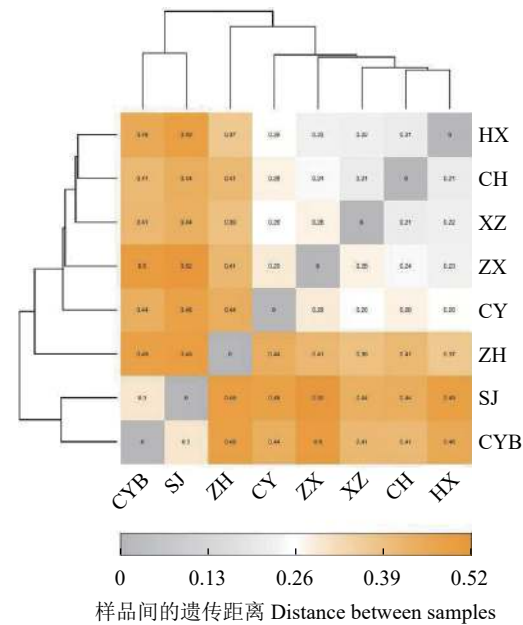


图 7 样本遗传距离分析
Fig. 7 Heat map of distance analysis on guava samples

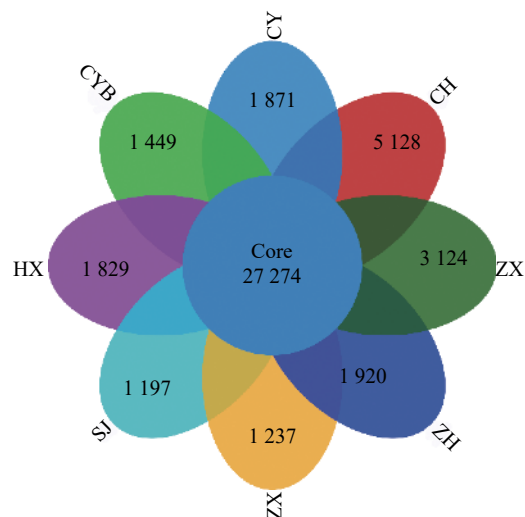


图 8 番石榴基因共表达韦恩图
Fig. 8 TPM Venn diagram of guava cultivars

表 2 番石榴 8 个品种间基因表达差异统计分析

Table 2 Statistical analysis on gene expressions of 8 guava cultivars

对照组 CK	试验组 Experimental cultivars	上调基因数 Up-regulatory genes	下调基因数 Down-regulatory genes	KEGG富集途径 KEGG pathway			
				1	2	3	4
SJ	ZX	2601	8289	Y	Y	Y	N
SJ	ZH	5959	11471	Y	Y	Y	N
SJ	CH	1996	7354	Y	Y	Y	N
SJ	XZ	1994	7178	Y	Y	Y	N
CYB	CY	2640	6327	Y	Y	Y	N
SJ	HX	2187	8443	N	Y	Y	Y
ZX	ZH	4876	4232	Y	Y	N	Y
CH	HX	13355	1896	Y	N	N	N

注：KEGG富集途径1：核糖体；2：碳代谢；3：氨基酸生物合成；4：淀粉和蔗糖代谢。Y表示富集到该代谢途径，N表示未富集到该代谢途径。
Note: KEGG pathway 1: ribosome; 2: carbon metabolism; 3: amino acid biosynthesis; 4: starch and sucrose metabolisms; Y: enriched; N: non-enriched.

3 讨论与结论

番石榴为桃金娘科常绿木本植物，具有较高的食用和药用价值。本研究较为系统地研究了番石榴的转录组，获得了大量的 Clean data，其中 Q₃₀ 和 GC 含量分析结果均符合要求。此外，在 Nr、KOG、GO、KEGG 等数据库中，大量 Unigene 得到有效注释，组装的 N₅₀ 和 N₉₀ 参数分别为 2 517 bp 和 579 bp。此外，还获得了大量番石榴 SSR 和 SNP 标记。整体上，本研究所构建的转录组文库较为可靠和准确，具有较高的参考价值，可为后续研究提供科学参考。

转录组分析可为揭示植物品种间的特征差异形

成机理提供重要的技术手段。目前，番石榴的转录组相关方面的研究较少^[34]。本试验中，通过转录组分析发现水晶 (SJ) 和彩叶变 (CYB) 聚为一类，红心 (HX)、彩虹 (CH)、秀珍 (XZ)、彩叶 (CY)、紫星 (ZX) 归为一类，但品种紫红 (ZH) 与其他品种间距离较远。说明紫红品种的分子特征较为特殊，而水晶和彩叶变的亲缘关系较近，其余红心 (HX)、彩虹 (CH)、秀珍 (XZ)、彩叶 (CY) 和紫星 (ZX) 的亲缘关系较近。聚类树状图与前期基于果实性状的研究结果较为一致^[35]，为番石榴种质资源分类提供了一定的参考。例如水晶 (SJ) 和彩叶变 (CYB) 的果皮颜色均为黄绿色；仅紫红 (ZH) 的果颜色为紫红色。在代谢途径差异方面，不同品种中富集的代谢途径并不完全一致，是导致品种果实间差异的重要原因，在后续分析中，仍需要进一步结合品种特性，关联转录组分析结果更加系统地揭示形成品种间性状差异的分子机理。

参考文献：

[1] GUTIÉRREZ R M P, MITCHELL S, SOLIS R V. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, 117 (1): 1–27.

[2] HUANG C S, YIN M C, CHIU L C. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Psidium guajava* fruit in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49 (9): 2189–2195.

[3] CHENG F C, SHEN S C, WU J S B. Effect of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extract on glucose uptake in rat hepatocytes [J]. *Journal of Food Science*, 2009, 74 (5): H132–H138.

[4] UBOH F E, OKON I E, EKONG M B. Effect of aqueous extract of *Psidium guajava* leaves on liver enzymes, histological integrity and hematological indices in rats [J]. *Gastroenterology Research*, 2010, 3 (1): 32–38.

[5] HAN E H, HWANG Y P, KIM H G, et al. Ethyl acetate extract of *Psidium guajava* inhibits IgE-mediated allergic responses by blocking FcεRI signaling [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49 (1): 100–108.

[6] RATTANACHAIKUNSOPON P, PHUMKHACHOM P. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava* [J]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, 4 (5): 393–396.

[7] 易富, 蔡敏琪, 李娅, 等. 番石榴叶水提取物对11种细菌的体外抑菌实验 [J]. *西南国防医药*, 2013, 23 (11): 1168–1169.

YI F, CAI M Q, LI Y, et al. Study on antimicrobial effects of guava leaf water extract on 11 kinds of bacteria in vitro [J]. *Medical Journal of National Defending Forces in Southwest China*, 2013, 23 (11): 1168–1169. (in Chinese)

[8] ADEYEMI O S, SYKES M L, AKANJI MA, et al. Anti-trypanosomal and cytotoxic activity of ethanolic extracts of *Psidium guajava* leaves in Alamar Blue based assays [J]. *Veterinarski Arhiv*, 2011, 81 (5): 623–633.

[9] LEE W C, MAHMUD R, NOORDIN R, et al. Free radicals

- scavenging activity, cytotoxicity and Anti-parasitic activity of essential oil of *Psidium guajava* L. leaves against *Toxoplasma gondii* [J]. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2013, 16 (1) : 32–38.
- [10] BHAGAVATHY S, MAHENDIRAN C, KANCHANA R. Identification of glucosyl transferase inhibitors from *Psidium guajava* against *Streptococcus mutans* in dental caries [J]. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2019, 9 (2) : 124–137.
- [11] MEHTA V V, RAJESH G, RAO A, et al. Antimicrobial efficacy of *Punica granatum* mesocarp, *Nelumbo nucifera* leaf, *Psidium guajava* leaf and *Coffea canephora* extract on common oral pathogens: An *In-vitro* study [J]. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 2014, 8 (7) : ZC65–ZC68.
- [12] 郭胜男, 刘洪斌, 李东华, 等. 番石榴叶总黄酮对糖尿病小鼠肝脏葡萄糖代谢及胰岛素信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (4) : 166–170.
- GUO S N, LIU H B, LI D H, et al. Effects of flavonoids from *Psidium guajava* leaves on hepatic glucose metabolism and insulin signaling pathway in diabetic mice [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2015, 21 (4) : 166–170. (in Chinese)
- [13] EL-AHMADY S H, ASHOUR M L, WINK M. Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Psidium guajava* fruits and leaves [J]. *Journal of Essential Oil Research*, 2013, 25 (6) : 475–481.
- [14] BATISTA SILVA W, COSME SILVA G M, SANTANA D B, et al. Chitosan delays ripening and ROS production in guava (*Psidium guajava* L.) fruit [J]. *Food Chemistry*, 2018, 242: 232–238.
- [15] SANTOS T M, SOUZA FILHO M D S M, SILVA E D O, et al. Enhancing storage stability of guava with tannic acid-crosslinked zein coatings [J]. *Food Chemistry*, 2018, 257: 252–258.
- [16] NAIR M S, SAXENA A, KAUR C. Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava* L.) [J]. *Food Chemistry*, 2018, 240: 245–252.
- [17] DE AQUINO A B, BLANK A F, DE AQUINO SANTANA L C L. Impact of edible chitosan-cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature [J]. *Food Chemistry*, 2015, 171: 108–116.
- [18] WANG H, DU Y J, SONG H C. A-Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of guava leaves [J]. *Food Chemistry*, 2010, 123 (1) : 6–13.
- [19] NUNES J C, LAGO M G, CASTELO-BRANCO V N, et al. Effect of drying method on volatile compounds, phenolic profile and antioxidant capacity of guava powders [J]. *Food Chemistry*, 2016, 197: 881–890.
- [20] SACCHETTI G, MAIETTI S, MUZZOLI M, et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods [J]. *Food Chemistry*, 2005, 91 (4) : 621–632.
- [21] FERNANDES M R V, DIAS A L T, CARVALHO R R, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of *Psidium guajava* L. spray dried extracts [J]. *Industrial Crops and Products*, 2014, 60: 39–44.
- [22] 张宏康, 林奕楠, 李德荣, 等. 番石榴泡腾片固体饮料研制 [J]. 食品工业, 2015, 36 (1) : 4–7.
- ZHANG H K, LIN Y N, LI D R, et al. Preparation of solid beverage of effervescent tablet from the extract of *Psidium guajava* [J]. *The Food Industry*, 2015, 36 (1) : 4–7. (in Chinese)
- [23] 刘蒙佳, 周强, 陈淑娣. 番石榴汁茶酒的发酵工艺研究 [J]. 茶叶科学, 2014, 34 (1) : 21–28.
- LIU M J, ZHOU Q, CHEN S D. Study on fermentation technology of tea wine with guava juice [J]. *Journal of Tea Science*, 2014, 34 (1) : 21–28. (in Chinese)
- [24] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2014, 30 (15) : 2114–2120.
- [25] HAAS B J, PAPANICOLAOU A, YASSOUR M, et al. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis [J]. *Nature Protocols*, 2013, 8 (8) : 1494–1512.
- [26] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHÄFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25 (17) : 3389–3402.
- [27] LANGMEAD B, SALZBERG S L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 [J]. *Nature Methods*, 2012, 9 (4) : 357–359.
- [28] WANG L G, WANG S Q, LI W. RSeQC: quality control of RNA-seq experiments [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28 (16) : 2184–2185.
- [29] QUINLAN A R, HALL I M. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26 (6) : 841–842.
- [30] PATRO R, DUGGAL G, LOVE M I, et al. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression [J]. *Nature Methods*, 2017, 14 (4) : 417–419.
- [31] LANGFELDER P, HORVATH S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis [J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [32] 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.
- [33] YU G C, WANG L G, HAN Y Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. *Omics*, 2012, 16 (5) : 284–287.
- [34] GHOSH R, TIWARY B K, KUMAR A, et al. Guava leaf extract inhibits quorum-sensing and *Chromobacterium violaceum* induced *Lysis* of human hepatoma cells: Whole transcriptome analysis reveals differential gene expression [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9) : e107703.
- [35] 张丽梅, 张朝坤, 陈洪彬, 等. 番石榴种质资源果实性状的聚类分析 [J]. 中国南方果树, 2019, 48 (6) : 58–63.
- ZHANG L M, ZHANG C K, Chen H B, et al. Cluster analysis of fruit characters of *guava germplasm* resources [J]. *South China Fruit*, 2019, 48 (6) : 58–63. (in Chinese)

(责任编辑: 黄爱萍)