

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.01.002

冯德玉, 徐卫红. 硼对大白菜谷氨酰胺合成酶家族基因影响研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(1): 17-30.

硼对大白菜谷氨酰胺合成酶家族基因影响研究

冯德玉, 徐卫红

西南大学 资源环境学院, 重庆 400715

摘要: 大白菜(*Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr.)对硼的需求量较高且对低硼胁迫很敏感,常出现硼缺乏症。目前国内外对硼调控蔬菜风味品质的研究较为缺乏。采用盆栽试验研究了不同硼肥用量对大白菜生长发育、风味以及谷氨酰胺合成酶(Glutamine Synthetase, GLN)家族基因表达的影响,初步探讨了硼对大白菜风味品质的调控机理。结果显示,施用硼肥提高了大白菜必需氨基酸占氨基酸总量的比例。主成分分析表明,蛋氨酸和半胱氨酸是大白菜的第一限制氨基酸,鲜味氨基酸中的天门冬氨酸和谷氨酸对大白菜风味贡献最大。施用硼肥后大白菜根 GLN1.2 和 GLN2 的表达量上调, GLN1.1 和 GLN1.4 的表达量下调。‘华良早 5 号’叶柄 GLN1.1 和 GLN1.4 的表达量上调,‘脆甜白 2 号’叶柄 GLN2 表达量上调, GLN1.2 表达量下调;叶片 GLN 家族基因表达量总体上调。大白菜地上部半胱氨酸质量分数与叶柄 GLN1.4 极显著正相关,酪氨酸质量分数与叶片 GLN1.4 显著负相关。不同大白菜品种对高硼的耐受能力存在差异,‘脆甜白 2 号’对高硼的耐受能力强于‘华良早 5 号’。

关键词: 硼; 大白菜; 品质调控; 氨基酸组分;

谷氨酰胺合成酶家族基因

中图分类号: X53

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2024)01-0017-14

Effects of Boron on Glutamine Synthetase Family Genes in Chinese Cabbage

FENG Deyu, XU Weihong

College of Resources and Environmental Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr.) has a high demand for boron and is sensitive to low boron stress, and often suffers from boron deficiency. At present, there is a lack of research on boron regulation of vegetable flavor quality at home and abroad. A pot experiment was conducted to study the effects of different borax fertilizer dosages on the growth, flavor and gene expression of glutamine synthetase (GLN) family of Chinese cabbage. The mechanism of boron regulated flavor quality of Chinese

收稿日期: 2023-06-12

基金项目: 农业农村部现代农业产业技术体系建设专项(CARS-23-B08); 国家重点研发计划项目(2018YFD0201200)。

作者简介: 冯德玉, 硕士研究生, 主要从事植物营养与环境生态研究。

通信作者: 徐卫红, 教授, 博士研究生导师。

cabbage was discussed. The results showed that the proportion of essential amino acids in total amino acids of Chinese cabbage was increased by applying borax fertilizer. Principal component analysis showed that methionine and cysteine were the first limiting amino acids of Chinese cabbage, and aspartic acid and glutamic acid in umami amino acids contributed the most to the flavor of Chinese cabbage. The expressions of *GLN1.2* and *GLN2* in the roots of Chinese cabbage were up-regulated, while *GLN1.1* and *GLN1.4* were down-regulated. The expressions of *GLN1.1* and *GLN1.4* in ‘Hualiangzao 5’ petiole, and the expression of *GLN2* in petiole of ‘Chutianbai 2’ were up-regulated, while the expression of *GLN1.2* was down-regulated. The expression of GLN family gene in the leaves was generally up-regulated. Extremely significant positive correlation was found between content of cysteine in shoot and the expression of *GLN1.4* in petiole, and significant negative correlation was observed in tyrosine content and the expression of *GLN1.4* in leaf. There were differences in the tolerance to high boron among different Chinese cabbage varieties. The tolerance of ‘Chutianbai 2’ to high boron was stronger than that of ‘Hualiangzao 5’.

Key words: boron; Chinese cabbage; quality improvement; amino acid component; Glutamine synthetase family genes

风味被定义为味道和气味的组合^[1]。植物能够合成成千上万种具有不同味道和气味的初级和次级代谢产物,蔬菜的主要代谢产物包括糖、酸、盐化合物和挥发性化合物。蔬菜风味品质的评价指标主要包括糖、酸和挥发性化合物(醇类、醛类、酮类、萜类、脂类和含硫化合物等)的含量及组合^[2-4]。挥发性化合物主要以脂肪酸、氨基酸、色素、羧基酸等为合成前体^[5],不同挥发性化合物的含量及组合决定了各种蔬菜所具有的独特风味和风味品质^[5]。蔬菜的营养和风味品质主要受作物的遗传因素制约,同时也受栽培环境、种植技术和采后贮藏处理等因素影响^[6]。近年来,随着生物化学技术、分子生物学技术突飞猛进地发展,全基因组、转录组、蛋白质组和代谢组的数据组成了生物学大数据,挥发性化合物的合成途径及其过程中相关关键酶不断被发现^[7]。确定关键酶及其控制基因,通过关键酶及其基因的过量表达或下调,利用基因 DNA 重组、转化等技术改善蔬菜风味品质已经成为可能^[8]。

我国土壤全硼质量分数在 0~500 mg/kg 之间,平均质量分数为 64 mg/kg,大致呈由北向南、自西向东逐渐降低的趋势^[9]。当土壤有效硼质量分数低于 0.5 mg/kg 时,作物就会出现缺硼症状,低于 0.25 mg/kg 时则会出现严重缺硼症状。全国第二次土壤普查数据表明,我国耕地土壤缺硼的面积多达 3 300 万 hm^2 ,西南、华南地区各省份,华北、东北地区部分省份以及长江中下游地区的耕地缺硼比例均大于 60%^[10]。硼供应量不足使植物生长缓慢,植株呈丛生状,节间缩短,生长停止;花粉数量减少,受精不良;果实生长发育受阻,结实少甚至不结实。此外,硼缺乏还会抑制植物的光合作用能力,改变植物酚类代谢,并影响氮的吸收和同化进而影响作物的风味品质^[11]。

大白菜(*Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr.)是原产于我国的一种芸薹属叶用蔬菜,在世界各地均有种植,因其适口性好,口味佳,深受人们喜爱。十字花科蔬菜(包括花椰菜、甘蓝和白菜)对硼的需求量很高,并且对低硼胁迫很敏感,常出现硼缺乏症^[12]。目前,国内外已对增施硼肥改善作物营养品质做了大量研究,但对硼影响蔬菜风味品质的研究依旧较为缺乏,其机制和原理也需要得到更多探索和论证。为此本研究采用盆栽试验,通过研究不同硼肥用量对大白菜生长发育、风味品质以及谷氨酰胺合成酶(GLN)家族基因表达的影响,初步探讨了硼对大白菜风味品质的调控机理。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

栽培基质以草炭、珍珠岩(粒径 3~6 mm,购自北碚花市)按体积比例 3:1 混合,混合基质的基

本理化性质为 pH 值 6.30, 容质量 0.161 g/cm³, 总孔隙度 94.41%, 持水孔隙 75.59%, 有机质 213.2 g/kg, 全氮 3.24 g/kg, 碱解氮 0.62 g/kg, 有效磷 16.18 mg/kg, 速效钾 188.46 mg/kg, 有效硼 0.394 mg/kg. 试验蔬菜为大白菜, 品种为‘华良早 5 号’和‘脆甜白 2 号’(北碚区农户大量种植品种), 于重庆市北碚区三圣镇德圣村(106°38′25.77″N, 29°54′53.84″E)育苗 35 d.

1.2 试验设计

试验于 2018 年 3 月 20 日—2018 年 5 月 12 日在西南大学 1 号温室大棚内进行, 采用基质盆栽试验. 试验采用顶部直径 27 cm、底径 19 cm、高 21 cm 的无孔灰色不透光塑料桶作为盆栽桶, 每桶装填混合基质 4.4 L. 试验设置 5 个处理: 不含硼营养液(CK)、含 0.5 mg/L H₃BO₃ 营养液(B1)、含 1 mg/L H₃BO₃ 营养液(B2)、含 2 mg/L H₃BO₃ 营养液(B3)、含 4 mg/L H₃BO₃ 营养液(B4), 每个处理设置 4 次重复, 随机排列. 3 月 20 日进行大白菜定植工作, 选取长势一致、健壮的幼苗(四叶一心)移栽, 每盆 3 株, 移栽时浇 500 mL 的 1/2 无硼日本园试营养液(表 1), 之后每 3 d 浇 300 mL 营养液以补充养分. 4 月 4 日进行不同硼梯度处理, 每 3 d 浇 300 mL 的不同硼质量浓度的营养液, 观察并记录其生长状况, 5 月 12 日收获. 整个生长期间浇灌营养液后使用去离子水补充水分, 保持基质含水量为田间持水量的 70%~80%. 培养 50 d 收获.

表 1 无硼日本园试营养液配方

化合物分子式	用量/(mg · L ⁻¹)	化合物分子式	用量/(mg · L ⁻¹)
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	45	H ₃ BO ₃	0
KNO ₃	809	MnSO ₄ · 4 H ₂ O	2.13
NH ₄ H ₂ PO ₄	153	ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	0.22
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	493	CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0.08
Na ₂ Fe-EDTA	20	(NH ₄) ₄ MO ₇ O ₂₄ · 4 H ₂ O	0.02

1.3 测定指标及方法

1.3.1 基质理化性质

基质 pH 值采用土水比 1 : 2.5 混合, 雷磁 pH 计(PHSJ-5, China)测定; 栽培基质容质量、总孔隙度、孔隙度采用环刀法测定^[13]; 将环刀浸入水中至栽培基质饱和, 然后用烘干法测定饱和含水率^[14]; 采用常规方法测定栽培基质全氮、碱解氮、有效磷、速效钾、有效硼、有机质等理化性质^[15].

1.3.2 氨基酸组分

氨基酸组分参照 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准食品中氨基酸的测定》, 使用日立 L-8800 型氨基酸自动分析仪测定.

1.3.3 RNA 提取与质量检测

RNA 提取采用生工生物工程(上海)股份有限公司 EZ-10 DNAaway RNA Mini-Preps Kit 试剂盒. RNA 提取后使用 Nano Drop 2000C 分光光度计检测 RNA 浓度, 通过 OD260/280 和 OD260/OD230 的比值结合 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的降解程度和质量, 提取合格的 RNA 样品置于 -80 °C 超低温冰箱保存.

1.3.4 RNA 纯化和逆转录

使用 TaKaRaPrimeScript™ Reagent Kit with Gdna Eraser(Perfet Real Time)试剂盒对提取合格的 RNA 进行残存基因组 DNA 去除和逆转录处理, cDNA 置于 -20 °C 保存备用.

1.3.5 GLN 家族基因引物设计

本试验研究了与氮代谢相关的谷氨酰胺合成酶(Glutamine Synthetase, GS)同工型 GLN 家族基因. 在拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)数据库中获取拟南芥 GLN 家族基因的基因座编号, 在 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行 BLAST 处理, 在 Vector NTI Advance 11.5 上进行拟南

芥与大白菜 GLN 家族基因序列对比,在 Primer 5.0/OligoArchitectTMOnline([http://www. oligoar-
chitect. com](http://www.oligoarchitect.com))上进行设计工作,共设计 4 对 qRT-PCR 引物(表 2). 设计引物由重庆擎科兴业生物技术
有限公司合成.

表 2 大白菜 GLN 家族基因的 qRT-PCR 引物

引物	引物序列 (5'→3')	预测退火温度 T ₀ /℃
F BrGLN1;1	CTGGCATCAACATTAGTGGCATC	60.0
R BrGLN1;1	TGTGTCTCAGTCCCAATTTATCG	60.0
F BrGLN1;2	GTATGCTGGAATTAACATCAGTGG	62.0
R BrGLN1;2	CTTGATTATCTCGTATCCTCCTTC	62.0
F BrGLN1;4	GTCTTTACGCCGGAATCAATGT	62.0
R BrGLN1;4	GTGTTTCCTTGTGACGCAATCCA	62.0
F BrGLN2	CAGGTGATCATGTTTGGTGTGC	62.0
R BrGLN2	TGCTTTCCGGTCAACCTTCTC	62.0

注: F 为正向引物, R 为反向引物, Br 为大白菜, GLN 为谷氨酰胺合成酶.

1.3.6 逆转录产物 cDNA 扩增

使用 PCR 仪(ABI-9700, America)对 cDNA 进行特异扩增. PCR 反应体系为: 2.5 μL 10×Easy Taq Buffer (Mg²⁺), 0.35 μL EasyTaq DNA Polymerase, 0.5 μL dNTPs, 0.5 μL 正向引物 F (5'-GTTACCA-CAGGGATAACTGGCTTG-3'), 0.5 μL 反向引物 R (5'-CTAACCTGTCTCACGACGGTCTAA-3'), 20.15 μL dd H₂O, 0.5 μL cDNA. PCR 反应程序为: 94℃预变性 2 min, 98℃变性 30 s, 退火(退火温度
为 60.0℃) 30 s, 72℃延伸 30 s, 35 个循环, 72℃最后延伸 10 min, 16℃ 3 min.

1.3.7 引物退火温度梯度试验

分别以大白菜各处理混合 cDNA 为模板,以 60℃为基准,设置 58,60,62,64,65,66℃ 6 个温度梯
度,采用 25 μL 标准半定量 RT-PCR 体系,在不同温度下扩增各样品中 GLN 家族基因,PCR 反应体系
为: 0.5 μL 正向引物 F, 0.5 μL 反向引物 R, 12.5 μL FastStart Essential DNA Green Master, 11 μL dd
H₂O, 0.5 μL cDNA. PCR 反应程序为: 95℃预变性 10 min, 95℃变性 10s, 退火(退火温度为设置的 6
个温度梯度) 30 s, 72℃延伸 20 s, 45 个循环,添加熔解曲线 65℃到 95℃. 扩增产物进行 1%的琼脂糖
凝胶电泳,以检测各引物的最适退火温度.

1.3.8 GLN 家族基因 qRT-PCR 检测

以 2 个品种大白菜 5 个不同处理的反转录产物 cDNA 稀释 30 倍后作为模板,26SrRNA 为内参基因,
使用荧光定量 PCR 仪(CFX96TM Real-Time System)进行 qRT-PCR 检测,反应体系为: 5 μL Fast Start
Essential DNA Green Master, 0.5 μL 正向引物 F, 0.5 μL 反向引物 R, 1.5 μL dd H₂O, 2.5 μL cDNA.
qRT-PCR 反应程序为: 95℃预变性 10 min, 95℃变性 10 s, T1 温度(T1 为不同引物的最适退火温度)退
火 10 s, 72℃延伸 20 s, 45 个循环,添加熔解曲线 65℃到 95℃.

1.4 数据处理与统计分析

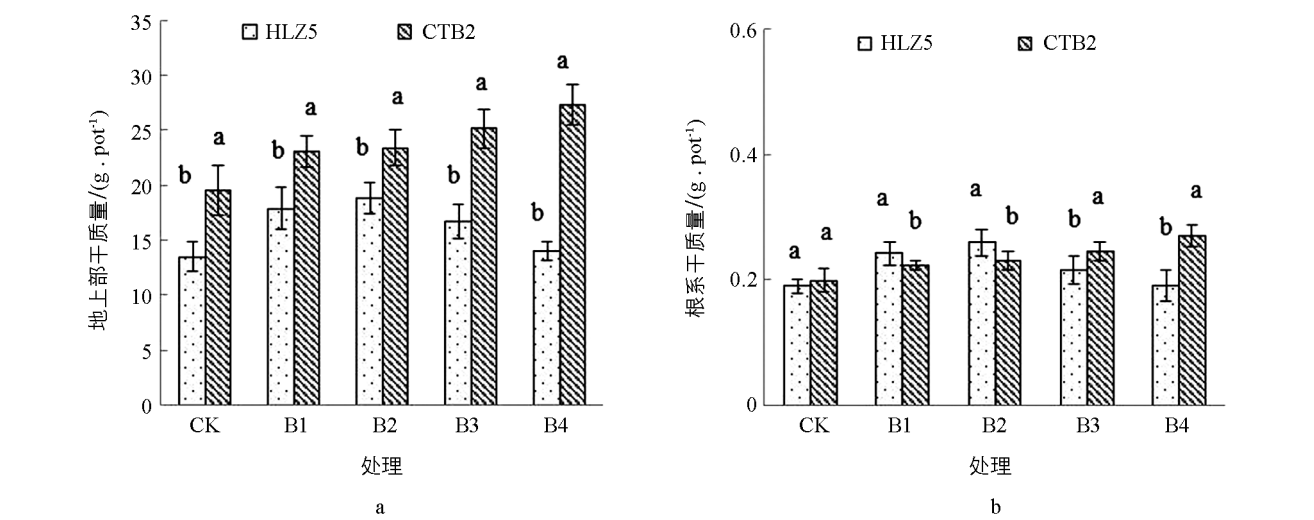
利用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理和图表制作,IBM SPSS Statistics 21.0 进行主成分分析、单因素
方差分析(One-way ANOVA)、相关性分析(Pearson 相关系数法)、最小显著差异法(Fisher Least Significant
Difference, LSD)检测法进行不同处理均值的差异显著性比较,当 $p<0.05$ 时,差异有统计学意义.

2 结果分析

2.1 不同硼肥用量对大白菜生物量的影响

不同硼质量浓度处理(0,0.5,1,2,4 mg/L H₃BO₃)下不同品种大白菜的地上部、根系生物量如图 1 所
示. 施用硼肥后,‘华良早 5 号’的地上部、根系随着硼质量浓度的提高呈先增加后减少的趋势(在最高硼质

量浓度处理下仍高于对照), 与对照组相比, 各处理的地上部和根系干质量分别增加 3.32%~39.66%和 0.48%~36.93%, 在 1 mg/L H_3BO_3 处理下各生物量最大; ‘脆甜白 2 号’的地上部和根系干质量随着硼质量浓度的提高而增加, 各处理的地上部、根系较对照组分别增加 18.16%~40.08%和 12.12%~36.51%, 在 4 mg/L H_3BO_3 处理时达到最大值. 此外, 不同大白菜品种间对高硼的耐受能力存在差异, 本试验中‘脆甜白 2 号’对高硼的耐受能力强于‘华良早 5 号’.



所列结果为平均值±标准偏差, 不同小写字母表示差异有统计学意义($p < 0.05$), HLZ5 为‘华良早 5 号’, CTB2 为‘脆甜白 2 号’, 下同.

图 1 不同硼处理下的大白菜生物量

2.2 GLN 家族表达量分析

如图 2 所示, 大白菜根部 GLN 家族基因的表达量随硼质量浓度的提高表现出不同的变化趋势: 外源施用硼肥降低了大白菜根部 *GLN1.1* 的表达量; ‘华良早 5 号’根部 *GLN1.2* 的表达量表现为先上调后下调最后再上调, ‘脆甜白 2 号’则表现为先下调再上调, 2 个品种大白菜 *GLN1.2* 的表达量均在 B4 处理下最大, 分别较对照上调 54.69 倍和 181.18 倍; ‘华良早 5 号’根部 *GLN1.4* 的表达量较对照表现为下调, ‘脆甜白 2 号’表现为先上调后下调, B1, B2 和 B4 处理分别较对照上调 1.04, 1.14 和 1.1 倍; *GLN2* 的表达量在‘华良早 5 号’中仅在 B3 处理上调 1.65 倍, 在‘脆甜白 2 号’表现为先上调后下调, B1, B2 和 B3 处理分别较对照上调 20.31, 1.51, 38.61 倍.

如图 3 所示, 大白菜叶柄 GLN 家族基因的表达量随硼质量浓度的提高表现为: ‘华良早 5 号’叶柄 *GLN1.2* 和 *GLN2* 的表达量随硼质量浓度的提高表现为先下调后上调, B3 处理较对照分别上调 7.06 倍和 3.09 倍; *GLN1.1* 和 *GLN1.4* 的表达量则不断上调, 分别在 B4 和 B3 处理下达到最大值, 较对照分别上调 7.66 倍和 131.97 倍; ‘脆甜白 2 号’叶柄 *GLN1.1* 的表达量除在 B3 处理中下调外, B1, B2 和 B4 处理分别较对照上调 1.43, 2.13, 3.14 倍; *GLN1.4* 和 *GLN2* 的表达量表现为先上调后下调, 均在 B2 处理下达到最大值, 分别较对照上调 1.02 倍和 322.85 倍; *GLN1.2* 的表达量则在外源施用硼肥后表现为不断下调.

如图 4 所示, 大白菜叶片中 GLN 家族基因的表达量在不同质量浓度硼酸处理下表现趋势为: *GLN1.1* 表现为先下调后上调, ‘华良早 5 号’和‘脆甜白 2 号’B1, B2, B3, B4 处理下的表达量分别为对照的 0.46, 92.37, 23.32, 24.14 倍和 0.6, 1.74, 4.01, 6.96 倍; ‘华良早 5 号’*GLN1.2* 的表达量表现为先下调后上调, 各处理的表达量分别为对照的 0.86, 59.78, 61.17, 94.86 倍; ‘脆甜白 2 号’*GLN1.1* 的表达量在 B1 和 B3 处理下上调, 各处理分别是对照的 1.60, 0.30, 2.14, 0.55 倍; ‘华良早 5 号’*GLN1.4* 的表达量表现为先上调后下调, ‘脆甜白 2 号’则为先下调后上调, 2 个品种大白菜 *GLN1.4* 的表达量分别在 B2 和 B3 处理下达到最大值, 较对照分别上调 7.29 倍和 21.23 倍; ‘华良早 5 号’和‘脆甜白 2 号’各处理下 *GLN2* 的表达量均较对照上调, 分别较对照上调 1.36, 278.62, 398.44, 93.77 倍和 1.07, 1.73, 1.77, 1.52 倍.

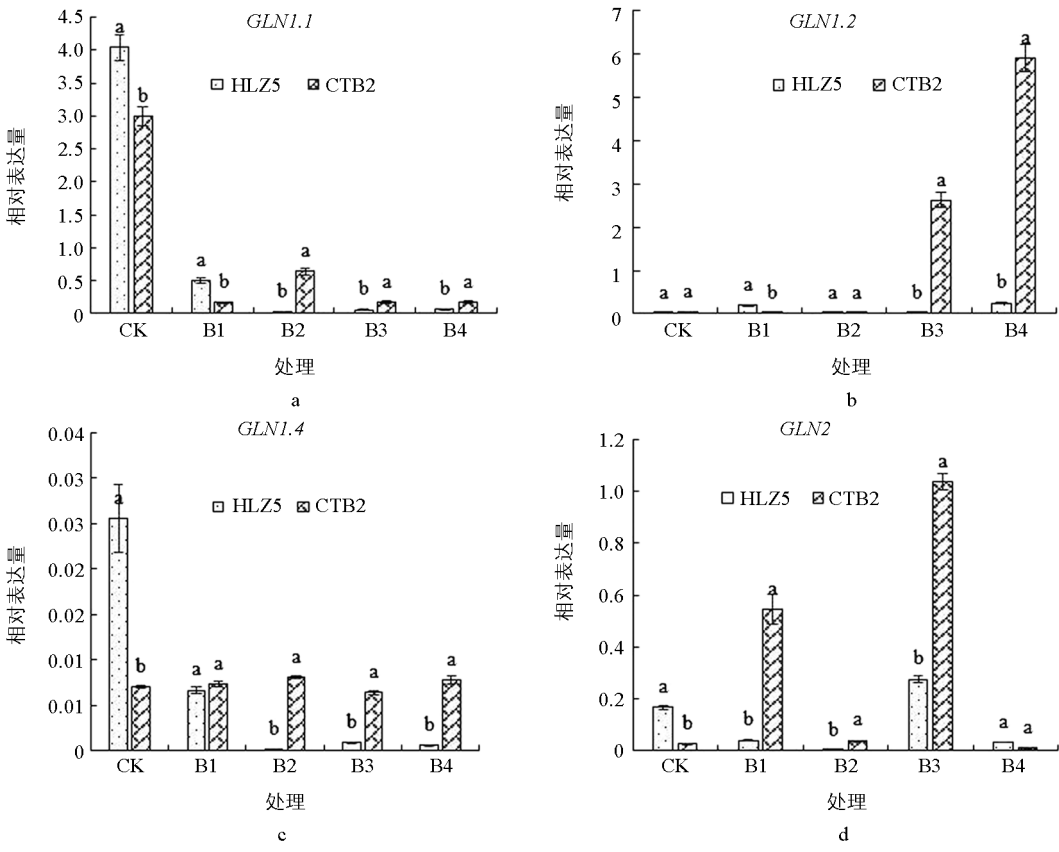


图 2 不同硼处理下大白菜根 GLN 家族基因表达

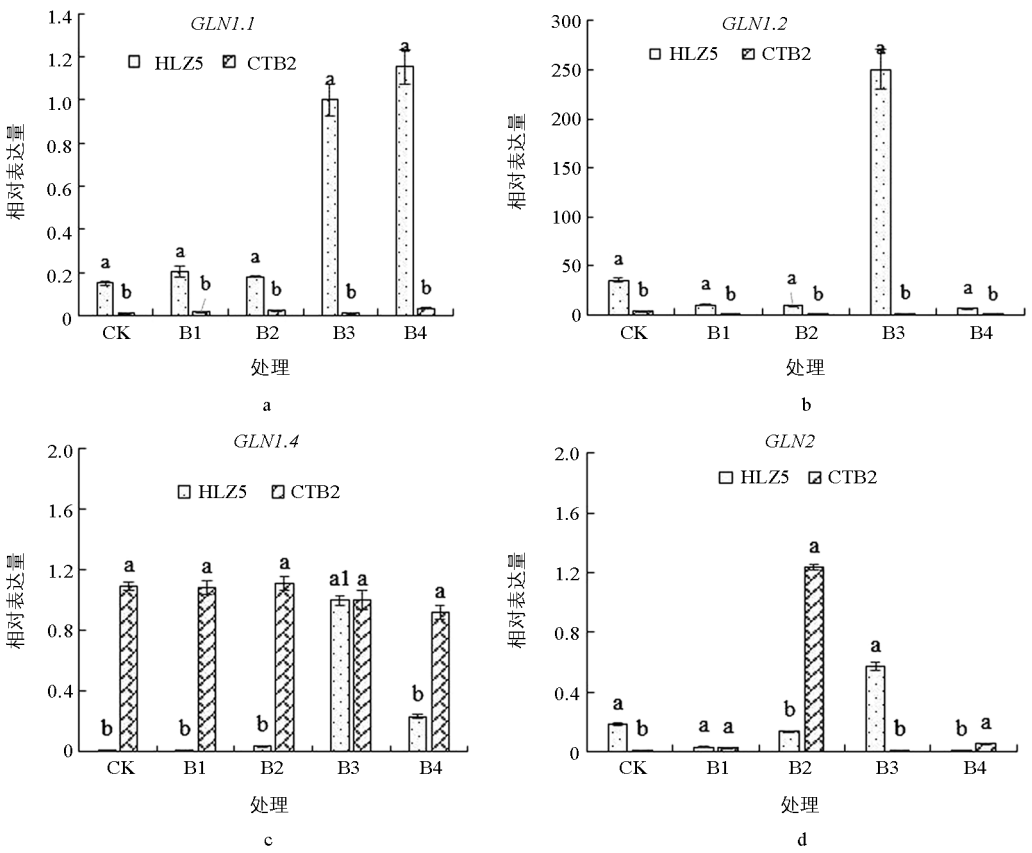


图 3 不同硼处理下大白菜叶柄 GLN 家族基因表达

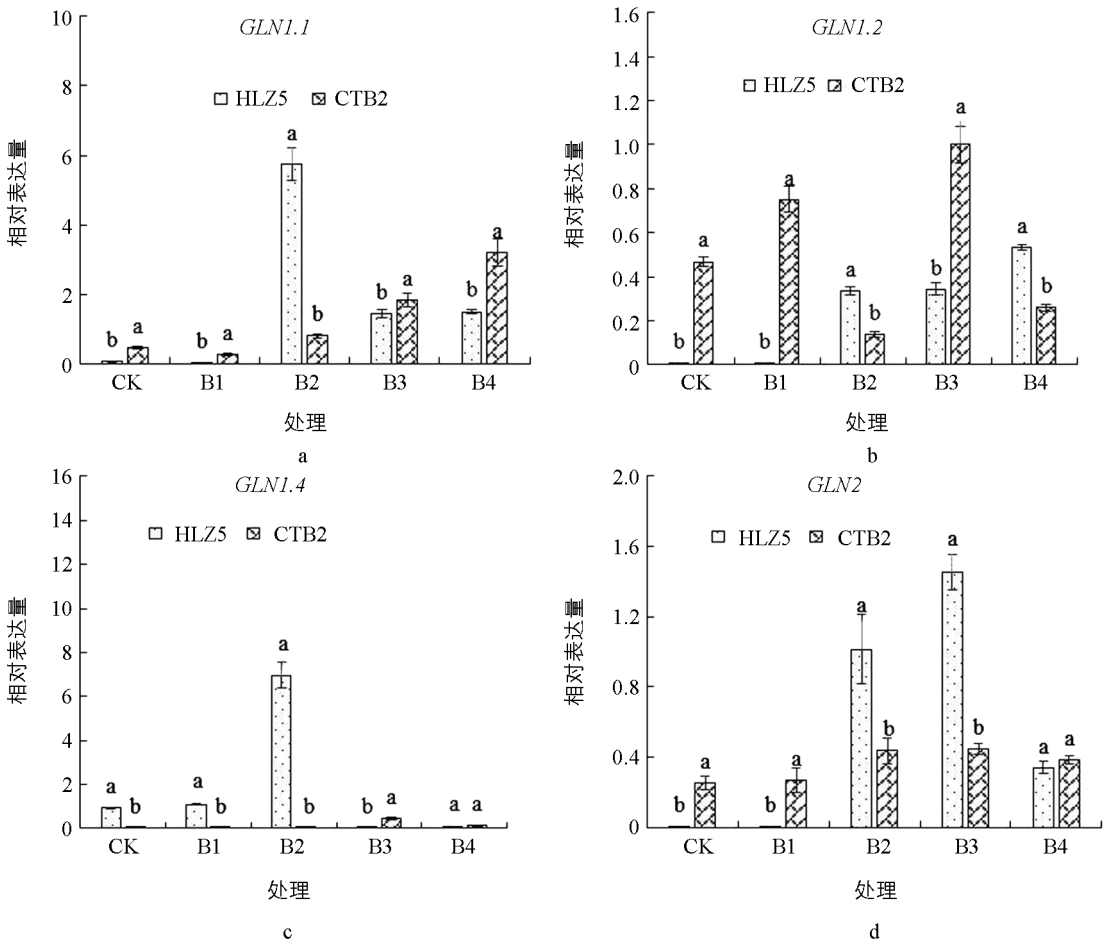


图 4 不同硼处理下大白菜叶片 GLN 家族基因表达

2.3 不同硼肥用量对大白菜氨基酸组成及质量分数的影响

2.3.1 氨基酸组成和质量分数

大白菜氨基酸组成及其质量分数随着硼质量浓度和品种的变化如表 3 所示. ‘华良早 5 号’的必需氨基酸、半必需氨基酸和氨基酸总量随着硼质量浓度的提高呈先上升再降低的趋势, 均在 B2 处理达到最大值, 分别较对照增加 23.74%, 27.38% 和 20.21%; 均在 B4 处理达到最小值, 分别是对照的 85.25%, 68.72% 和 83.84%; 外源补充硼元素提高了 EAA/TAA, 从而提高了大白菜的营养价值. ‘脆甜白 2 号’的必需氨基酸、半必需氨基酸和氨基酸总量随着硼质量浓度的提高表现出和‘华良早 5 号’相反的趋势, 即先降低再上升; 半必需氨基酸质量分数分别在 B4, B3 处理下达到最大、最小值, 必需氨基酸和氨基酸总量均在对照、B2 处理取得最大、最小值; EAA/TAA 在低硼质量浓度处理下(B1, B2)稍低于对照组, 在较高硼质量浓度处理下(B3, B4)高于对照组.

表 3 不同硼酸处理下大白菜氨基酸组成及质量分数

品种	处理	Asp	Thr*	Ser	Glu	Gly	Ala	Cys	Val*	Met*	Ile*	Leu*	Tyr	Phe*	Lys*	His#	Arg#	Pro	EAA	HEAA	TAA	EAA/TAA
‘华良早 5 号’	CK	9.57	2.90	2.90	11.82	5.51	6.26	0.32	7.15	1.34	5.78	10.99	0.56	7.93	5.61	2.29	1.36	12.06	41.70	3.65	94.35	44.19
	B1	9.92	2.98	3.09	12.88	5.87	6.76	0.26	6.71	2.30	5.73	10.82	0.16	8.53	5.18	2.43	1.30	8.97	42.24	3.72	93.88	45.00
	B2	12.13	3.28	3.52	15.10	6.71	7.97	0.34	8.25	2.58	7.10	13.39	0.25	10.61	6.39	3.03	1.62	11.15	51.60	4.65	113.42	45.49
	B3	11.19	2.98	3.12	14.99	6.40	7.64	0.34	7.83	1.65	6.78	13.08	0.22	10.77	6.39	1.83	1.78	11.12	49.49	3.61	108.13	45.77
	B4	8.61	2.09	2.47	10.88	5.01	5.72	0.21	5.75	1.72	4.86	9.26	0.06	7.42	4.45	1.48	1.03	8.09	35.55	2.51	79.11	44.93

续表 3

品种	处理	Asp	Thr*	Ser	Glu	Gly	Ala	Cys	Val*	Met*	Ile*	Leu*	Tyr	Phe*	Lys*	His#	Arg#	Pro	EAA	HEAA	TAA	EAA/TAA
‘脆甜白 2 号’	CK	9.83	3.92	3.31	13.74	6.01	8.09	ND	8.14	1.17	5.97	14.04	0.48	9.35	5.77	1.08	1.46	13.68	48.35	2.53	106.01	45.61
	B1	8.19	2.85	2.38	10.98	5.12	7.25	ND	7.04	0.68	5.33	12.19	0.42	7.97	4.32	0.54	1.21	12.21	40.37	1.74	88.67	45.53
	B2	7.48	2.61	2.27	9.99	4.64	6.25	0.07	5.92	0.87	4.39	10.13	ND	6.97	3.73	0.74	1.03	9.97	34.63	1.76	77.05	44.94
	B3	7.46	2.90	2.51	10.12	4.83	6.08	0.04	5.42	3.49	4.52	9.91	0.32	7.00	3.67	0.48	1.05	9.59	36.91	1.53	79.38	46.49
	B4	9.30	2.84	2.64	11.35	5.58	6.79	0.06	6.40	2.34	5.64	11.41	0.54	8.33	4.50	1.30	1.25	9.33	41.47	2.56	89.62	46.28

注：Asp 为天门冬氨酸；Thr 为苏氨酸；Ser 为丝氨酸；Glu 为谷氨酸；Gly 为甘氨酸；Ala 为丙氨酸；Cys 为半胱氨酸；Val 为缬氨酸；Met 为甲硫氨酸；Ile 为异亮氨酸；Leu 为亮氨酸；Tyr 为酪氨酸；Phe 为苯丙氨酸；Lys 为赖氨酸；His 为组氨酸；Arg 为精氨酸；Pro 为脯氨酸；EAA 为必需氨基酸；HEAA 为半必需氨基酸；TAA 为总氨基酸；氨基酸单位：g/kg；EAA/TAA 为必需氨基酸占总氨基酸的比值，单位：%。“*”表示必需氨基酸；“#”表示半必需氨基酸；ND 表示此质量浓度下未检出，下同。

2.3.2 氨基酸营养价值分析

蔬菜氨基酸的组成及质量分数不尽相同，也有众多评价蔬菜氨基酸营养价值的方法，但蔬菜所含必需氨基酸的种类、数量和组成比例等始终是决定蔬菜营养价值高低的重要指标。本试验采用了主成分分析法(PCA)分析不同硼酸质量浓度处理对大白菜氨基酸营养价值的影响。如表 4 所示，利用主成分分析法(提取条件为：特征值>1，累计方差贡献率≥85%)在大白菜 17 种氨基酸中提取出 3 个主成分。主成分 1,2,3 的特征值和方差贡献率分别为 11.387,2.964,1.162 和 56.59%,25.74%,8.93%，累计方差贡献率为 91.25%，可以代表大白菜氨基酸营养价值的大部分信息。

表 4 成分特征值、方差贡献率和累积方差贡献率

主成分 PC	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
PC1	11.387	56.59	56.59
PC2	2.964	25.74	82.33
PC3	1.162	8.93	91.25

表 5 是大白菜 17 种氨基酸的荷载量，各个变量在主成分中的重要程度通过数值的高低表现出来。PC1 包括了大白菜氨基酸营养价值的绝大部分品质信息，其中天门冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、异亮氨酸(Ile)和赖氨酸(Lys)系数较大，因此将以上 5 种氨基酸作为第 1 主成分的代表指标。PC2 则是苏氨酸(Thr)和脯氨酸(Pro)系数较大，所以把苏氨酸和脯氨酸作为第 2 主成分的代表指标。PC3 主要反映了大白菜甲硫氨酸(Met)贡献最大，故第 3 主成分的代表指标为甲硫氨酸。

为了构建大白菜氨基酸 3 个主成分模型，把 17 种氨基酸的主成分因子载荷除以其对应特征值的算术平方根，即得到每种氨基酸变量 X_{kn} 的系数 Y_{kn} ，以此为权重得到主成分的表达式如下：

$$F_k = \sum_{n=1}^{17} Y_{kn} \times X_{kn}$$

式中： F_k 为主成分 k 的得分； Y_{kn} 为变量 X_{kn} 的系数； X_{kn} 为主成分 k 的第 n 个因子载荷。

以 3 个主成分各自对应特征值的权重建立综合得分评价模型，表达式为 $F = 56.59/91.251 \times F_1 + 25.735/91.251 \times F_2 + 8.925/91.251 \times F_3$ 。由此计算 2 个品种大白菜在不同处理下氨基酸营养价值的得分及排名，如表 6 所示。根据综合得分值，‘华良早 5 号’各处理的氨基酸营养价值由高到低为：B2, B3, CK, B1, B4，‘脆甜白 2 号’各处理由高到低为：CK, B4, B1, B2, B3，‘华良早 5 号’的氨基酸营养价值总体上高于‘脆甜白 2 号’。

表 5 大白菜氨基酸营养价值变量因子荷载

指标	氨基酸	因子荷载		
		PC1	PC2	PC3
X_1	Asp	0.975	0.18	-0.047
X_2	Thr	0.336	0.875	-0.015
X_3	Ser	0.863	0.396	-0.148
X_4	Glu	0.932	0.314	0.048
X_5	Gly	0.931	0.339	-0.074
X_6	Ala	0.593	0.704	0.222
X_7	Cys	0.823	-0.46	-0.06
X_8	Val	0.76	0.555	0.323
X_9	Met	0.117	-0.047	-0.97
X_{10}	Ile	0.925	0.332	0.025
X_{11}	Leu	0.584	0.749	0.262
X_{12}	Tyr	-0.044	0.728	-0.128
X_{13}	Phe	0.896	0.347	0.072
X_{14}	Lys	0.936	0.266	0.126
X_{15}	His	0.881	-0.21	-0.169
X_{16}	Arg	0.878	0.377	0.121
X_{17}	Pro	0.183	0.781	0.488

表 6 不同硼酸处理下大白菜氨基酸主成分得分

品种	处理	主成分得分			综合得分	排名
		F1	F2	F3		
‘华良早 5 号’	CK	0.237	-0.160	0.320	0.13	4
	B1	0.573	-0.669	-0.684	0.1	5
	B2	1.713	0.203	-0.547	1.07	1
	B3	1.388	-0.131	0.608	0.88	2
	B4	-0.286	-1.736	0.121	-0.65	8
‘脆甜白 2 号’	CK	0.001	1.987	0.578	0.62	3
	B1	-0.898	0.656	1.300	-0.24	7
	B2	-1.027	-0.890	1.145	-0.78	9
	B3	-1.278	0.296	-1.851	-0.89	10
	B4	-0.424	0.444	-0.991	-0.23	6

2.3.3 氨基酸风味品质分析

蔬菜中氨基酸可分为游离氨基酸和非游离氨基酸，其中游离氨基酸对食物风味的影响较大。按照氨基酸味觉的差别，一般把氨基酸分为甜味氨基酸(Pro, His, Ala, Gly, Ser, Thr)、苦味氨基酸(Val, Met, Ile, Leu, Arg)、鲜味氨基酸(Lys, Asp, Glu)和芳香族氨基酸(Cys, Tyr, Phe)，各风味氨基酸的相对质量分数动态变化并相互影响，因此形成了各类食物多种多样的风味。由表 7 可知，‘华良早 5 号’地上部味觉氨基酸质量分数从高到依次为：甜味氨基酸、苦味氨基酸、鲜味氨基酸、芳香族氨基酸，‘脆甜白 2 号’则为：甜味氨基酸、鲜味氨基酸、苦味氨基酸、芳香族氨基酸；2 个品种大白菜甜味氨基酸、苦味氨基酸、鲜味氨基

酸和芳香族氨基酸分别占味觉氨基酸总量的 31.78%~34.03%，28.99%~30.71%，26.49%~28.07%，9.14%~9.96%；30.61%~33.83%，28.21%~29.04%，28.62%~30.26%，9.34%~10.47%。外源添加硼增加了苦味氨基酸和芳香族氨基酸的相对含量，减少了甜味氨基酸的相对含量。

表 7 不同硼酸处理下大白菜味觉氨基酸的相对含量 %

氨基酸	华良早 5 号					脆甜白 2 号				
	CK	B1	B2	B3	B4	CK	B1	B2	B3	B4
甜味氨基酸	33.83	32.06	31.45	30.61	31.44	34.03	34.22	34.35	33.24	31.78
苦味氨基酸	28.21	28.60	29.04	28.79	28.58	29.03	29.82	28.99	30.71	30.18
鲜味氨基酸	28.62	29.81	29.64	30.12	30.26	27.67	26.49	27.52	26.78	28.07
芳香族氨基酸	9.34	9.53	9.87	10.47	9.72	9.27	9.46	9.14	9.27	9.96

由于不同氨基酸的味觉阈值^[16]存在较大差异，有的甚至相差了几个数量级，通过味觉氨基酸的含量来评价各种氨基酸对食物风味品质贡献的方法是不严谨的，因此本试验采用大白菜中各种味觉氨基酸含量与其味觉阈值之比(Ratio of Content and Taste Threshold, RCT)实现这一目标。一般认为，RCT 值≥1 的氨基酸对食物的整体风味有较大贡献，且比值和影响成正比；RCT 值<1 的氨基酸则被认为对食物的整体风味无影响。如表 8 所示，外源硼元素的加入对大白菜各氨基酸 RCT 产生了不同的影响。对大白菜风味贡献最大的天门冬氨酸和谷氨酸在‘华良早 5 号’中先增后减，B2 处理达到最大值；‘脆甜白 2 号’则是先减后增，对照处理达到最大值。总之，‘华良早 5 号’不同硼质量浓度处理下味觉氨基酸 RCT 值由大到小依次为：B2，B3，B1，CK，B4，‘脆甜白 2 号’则为：CK，B4，B1，B3，B2。‘华良早 5 号’中对风味贡献较大的氨基酸的含量阈值比总体大于‘脆甜白 2 号’，‘华良早 5 号’较‘脆甜白 2 号’可能具有更好的风味品质。

表 8 不同硼酸处理下大白菜氨基酸含量阈值比

氨基酸		味觉 阈值	华良早 5 号					脆甜白 2 号				
			CK	B1	B2	B3	B4	CK	B1	B2	B3	B4
甜味氨基酸	Thr	2.6	1.11	1.15	1.26	1.15	0.80	1.51	1.10	1.00	1.12	1.09
	Ser	1.5	1.93	2.06	2.35	2.08	1.64	2.21	1.58	1.51	1.67	1.76
	Gly	1.1	5.01	5.34	6.10	5.82	4.55	5.46	4.65	4.22	4.39	5.07
	Ala	0.6	10.43	11.26	13.28	12.74	9.54	13.48	12.09	10.41	10.13	11.32
	His	0.2	11.46	12.13	15.15	9.15	7.42	5.38	2.69	3.68	2.41	6.51
	Pro	3.0	4.02	2.99	3.72	3.71	2.70	4.56	4.07	3.32	3.20	3.11
苦味氨基酸	Val	1.5	4.77	4.48	5.50	5.22	3.83	5.43	4.70	3.95	3.61	4.27
	Met	0.3	4.47	7.66	8.61	5.50	5.74	3.90	2.26	2.90	11.62	7.80
	Ile	0.9	6.43	6.36	7.89	7.54	5.40	6.63	5.92	4.88	5.02	6.27
	Leu	3.8	2.89	2.85	3.52	3.44	2.44	3.69	3.21	2.66	2.61	3.00
	Arg	0.1	13.60	12.97	16.22	17.79	10.27	14.56	12.08	10.27	10.46	12.54
鲜味氨基酸	Lys	0.5	11.23	10.36	12.77	12.79	8.89	11.53	8.64	7.47	7.35	9.01
	Asp	0.03	319.05	330.75	404.20	373.13	287.03	327.51	273.01	249.47	248.73	310.08
	Glu	0.05	236.40	257.66	302.09	299.71	217.57	274.74	219.64	199.82	202.39	227.09
芳香族氨基酸	Cys	0.02	16.09	13.08	16.76	16.79	10.58	ND	ND	3.42	1.86	2.89
	Tyr	2.6	0.22	0.06	0.10	0.09	0.02	0.18	0.16	ND	0.12	0.21
	Phe	1.5	5.28	5.69	7.08	7.18	4.95	6.23	5.31	4.65	4.67	5.56

2.4 GLN 家族基因表达量与氨基酸的相关性分析

大白菜地上部 17 种氨基酸含量与 GLN 家族基因表达量的相关性分析结果如表 9 所示. 大白菜地上部苏氨酸(Thr)含量与根部 *GLN1.1* 和 *GLN1.4* 显著正相关($r=0.658^*$, $r=0.694^*$), 半胱氨酸(Cys)含量与叶柄 *GLN1.4* 极显著正相关($r=0.817^*$), 酪氨酸(Tyr)含量与叶片 *GLN1.4* 显著负相关($r=-0.703^*$), 组氨酸(His)含量与叶柄 *GLN1.4* 显著正相关($r=0.676^*$), 脯氨酸(Pro)含量与根部 *GLN1.1*, *GLN1.4* 的相关性分别达到极显著和显著水平($r=0.772^{**}$, $r=0.651^*$), 其他氨基酸和 GLN 家族基因之间的相关性均未达到显著或极显著水平.

表 9 不同硼酸处理下大白菜氨基酸与 GLN 家族基因的相关性分析结果

氨基酸	根				叶柄				叶片			
	<i>GLN1.1</i>	<i>GLN1.2</i>	<i>GLN1.4</i>	<i>GLN2</i>	<i>GLN1.1</i>	<i>GLN1.2</i>	<i>GLN1.4</i>	<i>GLN2</i>	<i>GLN1.1</i>	<i>GLN1.2</i>	<i>GLN1.4</i>	<i>GLN2</i>
Asp	0.195	0.003	0.340	0.394	-0.415	-0.461	0.438	0.389	-0.427	0.274	-0.452	-0.454
Thr	0.658 [*]	-0.608	0.694 [*]	0.159	-0.051	0.067	-0.191	0.304	-0.588	-0.207	-0.169	-0.301
Ser	0.445	-0.189	0.572	0.353	-0.377	-0.236	0.390	0.446	-0.553	0.128	-0.455	-0.391
Glu	0.273	-0.023	0.488	0.524	-0.461	-0.376	0.332	0.346	-0.444	0.246	-0.383	-0.442
Gly	0.247	-0.100	0.421	0.445	-0.340	-0.380	0.348	0.376	-0.518	0.249	-0.471	-0.466
Ala	0.355	-0.335	0.584	0.291	-0.243	-0.280	-0.198	0.332	-0.500	-0.126	-0.166	-0.495
Cys	-0.068	0.272	-0.110	0.404	-0.556	-0.391	0.817 [*]	0.203	-0.079	0.549	-0.324	-0.125
Val	0.532	-0.233	0.628	0.258	-0.493	-0.462	0.015	0.267	-0.541	-0.053	-0.250	-0.631
Met	-0.356	-0.071	-0.314	0.167	0.538	0.625	0.600	0.529	-0.170	0.239	-0.507	0.539
Ile	0.246	-0.090	0.364	0.405	-0.366	-0.439	0.329	0.343	-0.528	0.230	-0.467	-0.516
Leu	0.475	-0.328	0.623	0.261	-0.244	-0.287	-0.200	0.273	-0.533	-0.132	-0.199	-0.535
Tyr	0.579	-0.451	0.288	-0.189	0.372	0.087	-0.182	-0.099	-0.703 [*]	-0.179	-0.488	-0.403
Phe	0.173	-0.020	0.396	0.524	-0.359	-0.380	0.245	0.343	-0.406	0.248	-0.358	-0.426
Lys	0.426	0.009	0.507	0.432	-0.543	-0.458	0.389	0.246	-0.477	0.244	-0.423	-0.531
His	0.101	0.025	0.102	0.189	-0.493	-0.484	0.676 [*]	0.351	-0.299	0.328	-0.406	-0.332
Arg	0.284	-0.100	0.375	0.577	-0.379	-0.354	0.280	0.234	-0.448	0.338	-0.353	-0.419
Pro	0.772 ^{**}	-0.452	0.651 [*]	-0.019	-0.288	-0.118	-0.352	0.072	-0.487	-0.379	0.001	-0.455

3 讨论

硼与植物生长的变化、固氮和硝化作用、次级代谢和氧化应激等密切相关^[17]. 本试验中, 硼缺乏(CK)显著抑制了大白菜植株的生长, 通过外源补充硼肥后, 大白菜根部、地上部生物量随着硼质量浓度的提高而显著增大, ‘华良早 5 号’和‘脆甜白 2 号’的根部和地上部生物量分别在 B2 和 B4 处理达到最大值, 株高分别在 B3 和 B2 处理达到最大值, 但随后生物量开始减少. 原因可能是硼缺乏和产生毒害之间的范围很小, 当外源添加硼元素使基质中硼的质量浓度超过这一范围后, 就对植株的生长发育产生不利影响甚至产生毒害作用. 同时, 2 个品种大白菜的生物量对硼的响应不完全一致, 可能是 2 个品种对硼需求量的差异导致的, ‘脆甜白 2 号’对硼的需求量大于‘华良早 5 号’.

氨基酸既是蔬菜营养品质的重要组成部分, 又是影响蔬菜风味的重要因素之一^[18]. 本试验中, 施用硼肥提高了‘华良早 5 号’EAA/TAA, 必需氨基酸和非必需氨基酸达均在 B2 处理下达到最大值, ‘脆甜白 2 号’在 B3, B4 处理下的必需氨基酸、非必需氨基酸和 EAA/TAA 均高于对照, 说明适当质量浓度的硼可以提高大白菜氨基酸质量分数, 提升大白菜的营养价值. 本试验对不同硼酸处理下大白菜地上部氨基酸的营养价值进行主成分分析法时, 综合考虑了氨基酸的总量和组成, ‘华良早 5 号’和‘脆甜白 2 号’的氨基酸营

养价值分别在 B2 和 B4 处理最大,‘华良早 5 号’较‘脆甜白 2 号’有更高的氨基酸营养价值. 在对大白菜地上部的氨基酸风味品质分析中发现,甜味氨基酸质量分数最高,是大白菜的主要呈味氨基酸. 此外,我们还引用了味觉阈值来分析不同处理下大白菜地上部氨基酸的风味品质,发现鲜味氨基酸中的天门冬氨酸和谷氨酸对大白菜风味贡献最大,‘华良早 5 号’和‘脆甜白 2 号’不同硼质量浓度下味觉氨基酸 RCT 值由大到小依次为: B2, B3, B1, CK, B4; CK, B4, B1, B3, B2, ‘华良早 5 号’较‘脆甜白 2 号’有更高的氨基酸风味品质. 适当施用硼肥可以提高大白菜地上部氨基酸营养价值和风味品质,可能是硼对氮代谢产生促进作用,使植物体内与氮代谢的相关酶(如硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶和天冬酰胺合成酶)的活性增加^[19],促进了植物体内氨基酸的合成.

目前已有大量研究表明植物体内的硼氮具有相互促进的作用^[20]. 根部吸收硝酸盐被认为是氮代谢的关键过程,虽然目前尚无令人信服的证据表明硼对硝酸盐的同化有直接作用^[21],但 Camacho-Cristóbal 等^[22]的研究显示,缺硼条件下烟草叶片和根部的硝酸盐质量浓度均下降,表明维管植物中硼与硝酸盐同化之间可能存在联系. 硝酸盐(NO_3^-)和铵盐(NH_4^+)是植物根部吸收无机氮的主要形式^[23],植物吸收的无机氮转化为 NH_4^+ 后被同化到有机氮化合物中,随后掺入蛋白质、核酸和一系列次级代谢产物中^[24]. “GS-GOGAT 循环”是植物氮同化最基本的途径,GS 在“GS-GOGAT 循环”中作为催化氮初始同化的关键酶,起到氮库的作用^[25]. 目前在高等植物的基因组中编码了两种 GS 同工型:胞质 Gln 合成酶同工型(GS1/*GLN1*)和叶绿素 Gln 合成酶同工型(GS2/*GLN2*). 由于 GS1 和 GS2 的编码差异,以及它们分布在植物不同器官的特异性,决定了它们具有不同的生理作用^[26]. 在大多数植物物种中,GS 在叶绿体(GS2/*GLN2*)中以单一同工型的形式存在,在细胞质中以 5 种同工型的形式存在^[27]. GS2 的主要作用是同化 NO_3^- 还原和光呼吸释放的 NH_4^+ ; GS1 的主要作用是产生谷氨酰胺以完成细胞之间氮的运输,但单个 GS1 亚型可能发挥不同的功能. 大麦(*Hordeum vulgare* L.)基因组编码 3 种 GS1 同工酶,其中 *HvGS1-1* 转录本主要存在于维管组织中,*HvGS1-2* 主要存在于根部,而 *HvGS1-3* 几乎仅存在于籽粒中^[28]. 数量性状基因座的研究表明,大麦 *HvGS1-1* 基因与谷物蛋白质含量有关^[29],而玉米直向同源物 *ZmGln1-3* 和 *ZmGln1-4* 分别与谷粒质量和籽粒产量相关^[30]. 硬粒小麦(*Triticum durum* L.)中籽粒蛋白质含量、GS(GS1 和 GS2)基因表达与 GS 活性之间呈正相关^[31-32].

相对于谷氨酸和铵,不同的 GS1 亚型表现出不同的动力学性质:*GLN1.1* 和 *GLN1.4* 对铵具有高亲和力,而 *GLN1.2* 和 *GLN1.3* 具有低亲和力,*GLN1* 基因在根、茎和叶片衰老过程中差异表达^[33]. 在拟南芥的 6 个 GLN 基因中,*GLN1.1*, *GLN1.2*, *GLN1.3*, *GLN1.4* 在根中高度表达^[34],氮缺乏导致根中 *GLN1.1*, *GLN1.3* 和 *GLN1.4* 上调^[24]. 本试验中,除‘脆甜白 2 号’叶柄的 *GLN1.4* 外,施用硼肥提高了大白菜叶柄和叶片 GLN 家族基因的表达量,可能是因为施用硼肥后增强了大白菜根系对无机氮(以 NO_3^- 为主)的吸收能力^[22], NO_3^- 通过维管束运输到叶片后被转化为 NH_4^+ ,从而提高了叶片 NH_4^+ 的水平,提高了叶柄和叶片 GLN 家族基因的表达量^[35],但是大白菜根 *GLN1.1* 和 *GLN1.4* 的表达量随着硼质量浓度的提高而下调. 大白菜不同器官的 GLN 家族基因表达量对不同质量浓度硼的响应存在差异可能是由于 GLN 表达过程的复杂性、作物品种的差异性,以及氮素对 GLN 的影响具有细胞特异性导致的^[36],其具体的作用机制还需要进一步研究. 此外,本试验使用 Pearson 相关性分析方法,对不同硼质量浓度处理下大白菜 GLN 基因家族表达量分别与氨基酸和挥发性化合物进行相关性分析,发现前述部分物质与 GLN 基因家族的相关性达到显著或极显著水平,其机理还需进一步深入探讨.

4 结论

在缺硼的条件下适当补充硼肥可以提高大白菜的生物量. 整体上看, B2 (1 mg/L H_3BO_3) 处理下大白菜生长情况最好. 不同大白菜品种间对高硼的耐受能力存在差异,本试验中,‘脆甜白 2 号’对高硼的耐受

能力强于‘华良早 5 号’。施用硼肥提高了大白菜必需氨基酸占氨基酸总量的比例。蛋氨酸和半胱氨酸是大白菜的第一限制氨基酸, 鲜味氨基酸中的天门冬氨酸和谷氨酸对大白菜风味贡献最大。施用硼肥对大白菜根、叶柄和叶片 GLN 家族基因表达量产生不同的影响, 叶片 GLN 家族基因表达量总体上调。大白菜地上部半胱氨酸质量分数与叶柄 *GLN1.4* 极显著正相关, 酪氨酸质量分数与叶片 *GLN1.4* 显著负相关, 组氨酸质量分数与叶柄 *GLN1.4* 显著正相关。

参考文献:

- [1] VAN STOKKOM V L, BLOK A E, VAN KOOTEN O, et al. The Role of Smell, Taste, Flavour and Texture Cues in the Identification of Vegetables [J]. *Appetite*, 2018, 121: 69-76.
- [2] HUI Y H, CHEN F, NOLLET L M, et al. Handbook of Fruit and Vegetable Flavors: Hui/Vegetable Flavors [M]. Hoboken: Wiley, 2010.
- [3] VALLONE S, SIVERTSEN H, ANTHON G E, et al. An Integrated Approach for Flavour Quality Evaluation in Muskmelon (*Cucumis Melo L. reticulatus* Group) during Ripening [J]. *Food Chemistry*, 2013, 139(1/4): 171-183.
- [4] RAMBLA J L, TIKUNOV Y M, MONFORTE A J, et al. The Expanded Tomato Fruit Volatile Landscape [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(16): 4613-4623.
- [5] BAUCHET G, GRENIER S, SAMSON N, et al. Identification of Major Loci and Genomic Regions Controlling Acid and Volatile Content in Tomato Fruit: Implications for Flavor Improvement [J]. *The New Phytologist*, 2017, 215(2): 624-641.
- [6] 吴玥, 寇智瑞, 陈新平, 等. 氮肥供应对辣椒营养品质的影响及评价 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2021, 43(1): 87-94.
- [7] YIN L, CHEN H C, CAO B H, et al. Molecular Characterization of MYB28 Involved in Aliphatic Glucosinolate Biosynthesis in Chinese Kale (*Brassica Oleracea* Var. *alboglabra* Bailey) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1083.
- [8] 雷建军, 朱张生, 陈长明, 等. 辣椒分子育种研究进展 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2023, 45(7): 1-20.
- [9] 刘铮, 朱其清, 唐丽华. 土壤中硼的含量和分布的规律性 [J]. *土壤学报*, 1989, 26(4): 353-361.
- [10] 卢一铭, 徐龙水, 徐卫红. 不同供硼水平对番茄营养和风味品质的影响 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2023, 45(7): 107-122.
- [11] WIMMER M A, ABREU I, BELL R W, et al. Boron: An Essential Element for Vascular Plants [J]. *New Phytologist*, 2020, 226(5): 1232-1237.
- [12] MA J Z, ZHANG M, LIU Z G, et al. Copper-Based-Zinc-Boron Foliar Fertilizer Improved Yield, Quality, Physiological Characteristics, and Microelement Concentration of Celery (*Apium Graveolens* L.) [J]. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 2019, 31(1): 261-271.
- [13] 高晨, 李晓鹏, 张红霞, 等. 初始含水量和容重对黑土压缩特性的影响 [J]. *农业工程学报*, 2023, 39(9): 102-111.
- [14] 杨剑虹, 王成林, 代亨林. 土壤农化分析与环境监测 [M]. 北京: 中国大地出版社, 2008.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [16] 侯娜, 赵莉莉, 魏安智, 等. 不同种质花椒氨基酸组成及营养价值评价 [J]. *食品科学*, 2017, 38(18): 113-118.
- [17] MARTÍN-REJANO E M, CAMACHO-CRISTÓBAL J J, HERRERA-RODRÍGUEZ M B, et al. Auxin and Ethylene are Involved in the Responses of Root System Architecture to Low Boron Supply in Arabidopsis Seedlings [J]. *Physiologia Plantarum*, 2011, 142(2): 170-178.
- [18] 欧行奇, 任秀娟, 周岩. 叶菜型甘薯茎尖的氨基酸含量及组成分析 [J]. *中国食品学报*, 2007, 7(4): 120-125.
- [19] CHEN Y H, HAN W X, TANG L Y, et al. Leaf Nitrogen and Phosphorus Concentrations of Woody Plants Differ in Responses to Climate, Soil and Plant Growth Form [J]. *Ecography*, 2013, 36(2): 178-184.
- [20] 刘桂东, 姜存仓, 王运华, 等. 缺硼条件下两种不同砧木“纽荷尔”脐橙矿质元素含量变化的比较 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(1): 180-185.
- [21] BROWN P H, BELLALLOUI N, WIMMER M A, et al. Boron in Plant Biology [J]. *Plant Biology*, 2002, 4(2):

- 205-223.
- [22] CAMACHO-CRISTÓBAL J J, GONZÁLEZ-FONTES A. Boron Deficiency Decreases Plasmalemma H^+ -ATPase Expression and Nitrate Uptake and Promotes Ammonium Assimilation into Asparagine in Tobacco Roots [J]. *Planta*, 2007, 226(2): 443-451.
- [23] BEANS C. Vegetable Breeders Turn to Chefs for Flavor Boost [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(40): 10506-10508.
- [24] HAWKESFORD M, HORST W, KICHEY T, et al. Functions of Macronutrients [M]. Amsterdam: Elsevier, 2012.
- [25] YAMAYAT, KUSANOM. Evidence Supporting Distinct Functions of Three Cytosolic Glutamine Synthetases and Two NADH-Glutamate Synthases in Rice [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(19): 5519-5525.
- [26] CASTRO-RODRÍGUEZ V, GARCÍA-GUTIÉRREZ A, CAÑASR A, et al. Redundancy and Metabolic Function of the Glutamine Synthetase Gene Family in Poplar [J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15(1): 1-14.
- [27] SWARBRECK S M, DEFOIN-PLATEL M, HINDLE M, et al. New Perspectives on Glutamine Synthetase in Grasses [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(4): 1511-1522.
- [28] GOODALL A J, KUMARP, TOBIN A K. Identification and Expression Analyses of Cytosolic Glutamine Synthetase Genes in Barley (*Hordeum Vulgare* L.) [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2013, 54(4): 492-505.
- [29] JUKANTI A K, FISCHER A M. A High-Grain Protein Content Locus on Barley (*Hordeum Vulgare*) Chromosome 6 is Associated with Increased Flag Leaf Proteolysis and Nitrogen Remobilization [J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 132(4): 426-439.
- [30] GALLAIS A, HIREL B. An Approach to the Genetics of Nitrogen Use Efficiency in Maize [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(396): 295-306.
- [31] ZHANG M W, MA D Y, MA G, et al. Responses of Glutamine Synthetase Activity and Gene Expression to Nitrogen Levels in Winter Wheat Cultivars with Different Grain Protein Content [J]. *Journal of Cereal Science*, 2017, 74: 187-193.
- [32] BELEGGIA R, RAU D, LAIDÒ G, et al. Evolutionary Metabolomics Reveals Domestication-Associated Changes in Tetraploid Wheat Kernels [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1740-1753.
- [33] ISHIYAMA K, INOUE E, WATANABE-TAKAHASHI A, et al. Kinetic Properties and Ammonium-Dependent Regulation of Cytosolic Isoenzymes of Glutamine Synthetase in Arabidopsis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(16): 16598-16605.
- [34] KONISHIN, ISHIYAMAK, BEIER M P, et al. Contributions of Two Cytosolic Glutamine Synthetase Isozymes to Ammonium Assimilation in Arabidopsis Roots [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(3): 613-625.
- [35] 管闪青. 甜瓜谷氨酰胺合成酶基因的克隆及其表达分析研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2007.
- [36] HIGASHIK, SHIOTAH, KAMADAH. Patterns of Expression of the Genes for Glutamine Synthetase Isoforms during Somatic and Zygotic Embryogenesis in Carrot [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1998, 39(4): 418-424.

责任编辑 包颖
崔玉洁