Vol. 46 No. 1

DOI: 10. 13718/j. cnki. xdzk. 2024. 01. 003

缪迪季,徐龙水,徐卫红.硼诱导下番茄红素代谢关键基因表达特征 [J].西南大学学报(自然科学版),2024,46(1):31-46.

硼诱导下番茄红素代谢关键基因表达特征

缪迪季, 徐龙水, 徐卫红

西南大学 资源环境学院,重庆 400715

摘要: 微量元素硼参与作物的光合作用、糖的转化等多种生物代谢. 糖和番茄红素是番茄果实的重要品质,但目前对于硼诱导下糖和番茄红素代谢关键酶基因表达变化研究尚少. 采用大田试验研究不同供硼水平(0、1、2、4和8mg/L硼砂)对'凯丰'和'红丽'两种番茄营养和风味品质的影响,运用转录组学和基因组学初步探究硼诱导的转录代谢信息,以及糖代谢关键基因和番茄红素合成关键基因的表达特征.结果显示,随着供硼水平的增加,两个品种番茄的产量较对照分别提高了 27.3%~67.2%和 22.2%~86.2%.转录组分析发现,硼处理下两个番茄品种的差异表达基因主要富集在生物过程中,部分差异基因还富集在番茄红素合成代谢通路和糖分合成代谢 通路上.随着供硼水平的增加,在绿熟期番茄的糖代谢关键基因表达量整体上调,番茄红素合成关键基因 PSY、 PDS、ZDS、CrtISO表达量在绿熟期上调,Z-ISO 基因表达量在成熟期上调.可溶性总糖与 BA、NI 基因的表 达水平呈正相关,番茄红素含量与 PSY、CrtISO 基因表达量呈正相关.

关 键 词: 硼;番茄红素;糖代谢;基因表达;转录组
中图分类号: S641.2; Q946
文献标志码: A

文 章 编 号: 1673 - 9868(2024)01 - 0031 - 16



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Characteristics of Key Gene Expression in Lycopene Metabolism Induced by Boron

MIAO Diji, XU Longshui, XU Weihong

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

Abstract: The trace element boron is involved in a variety of biological metabolism such as photosynthesis and sugar conversion of crops. Sugar and lycopene are the important quality traits of tomato fruit, but there are still few studies on the changes of key enzyme genes expression in sugar and lycopene metabolism induced by boron. In this article, the effects of different boron supply levels (0, 1, 2, 4 and 8 mg/L borax) on the nutritional and flavor quality of Kaifeng and Hongli tomatoes were studied by field experi-

收稿日期: 2023-06-12

基金项目: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: 缪迪季, 硕士研究生, 主要研究方向为植物营养与环境生态.

通信作者:徐卫红,博士,教授,博士研究生导师.

ments. Transcriptomics and genomics were used to preliminarily investigate the transcription and metabolism information induced by boron, as well as the expression characteristics of key enzyme genes for glucose metabolism and lycopene synthesis. The results showed that with the increase of boron supply level, the yield of tomatoes of both varieties showed an increasing trend, which increased by 27. 3%-67. 2% and 22. 2%-86. 2% compared with the control, respectively. Transcriptome analysis showed that the differentially expressed genes of the two tomato cultivars under boron treatment were mainly enriched in biological processes, and some differentially expressed genes were also enriched in the lycopene and sugar anabolic pathways. With the increase of boron supply level, the expression of key genes for sugar metabolism in tomatoes in the green ripening stage was upregulated. The expressions of key genes for lycopene synthesis, PSY, PDS, ZDS and CrtISO were upregulated in the green ripening stage, and the expression of Z-ISOgene was upregulated at the maturity stage. The correlation analysis showed that total soluble sugars were positively correlated with the expression levels of BA and NI genes, and lycopene content was positively correlated with the expression of PSY and CrtISO genes.

Key words: boron; lycopene; sugar metabolism; gene expression; transcriptome sequencing

硼是高等植物必需的微量营养元素之一,参与植物的光合作用、细胞壁的合成、糖的转化和运输等多种生物代谢过程^[1].我国缺硼的耕地土壤多达3000万hm²以上,其中土壤的硼含量由北向南、由西向东 逐渐降低.在降雨量充沛的南方,土壤缺硼现象更为严重,这也是限制地区作物高产和优质的因素之 一^[2-3].然而,在硼缺乏和硼过量之间存在一个相对狭窄的范围^[4].适宜的硼用量才能促进作物生长发育, 获得更高产量和品质.

甜度作为水果风味的重要组成部分,由糖含量、糖酸比和糖的类型决定.果实中可溶性糖主要包括 蔗糖、果糖和葡萄糖,3种糖的组成与比例对果实甜度有很大影响^[5].番茄果实的甜度主要由葡萄糖和 果糖的含量决定,果糖的甜度是葡萄糖的2倍,提高番茄中果糖的含量可以增加果实甜度,从而改善番 茄果实风味^[6].糖代谢涉及各种酶的复杂网络调节,蔗糖代谢是糖积累的关键因素,受蔗糖磷酸合酶 (SPS)、蔗糖合酶(SS)和蔗糖酶(Ivr)的调控.有反应的糖类及其衍生物主要参与糖酵解或糖转运,包括 1-磷酸葡萄糖、6-磷酸葡萄糖、6-磷酸果糖和蔗糖等^[7].有研究发现缺硼处理后参与碳水化合物的琥珀 酸脱氢酶铁硫亚基、酮还原酶家族中的氧化还原酶上调表达;在高硼处理后参与碳水化合物代谢的肌醇 单磷酸酶家族蛋白上调表达,主要参与了抗坏血酸和磷酸肌醇代谢^[8].另外有学者在硼缺乏处理后的根 中鉴定出389个差异表达的蛋白质,根据生物学功能特性,参与碳水化合物和能量代谢的蛋白质有53 个,占比为13.6%.其中大多数与碳水化合物代谢相关的差异表达蛋白在硼缺乏中上调,这些上调的蛋 白质主要参与碳水化合物(淀粉和蔗糖)生物合成、糖降解、磷酸戊糖途径、三羧酸循环、乳酸发酵、乙 醇发酵等过程.这与硼缺乏会增加高等植物和藻类中的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(GPDH),6-磷酸葡萄糖 酸脱氢酶(6PGDH)和β-葡萄糖苷酶的活性结果一致^[9-10].其中所有下调的蛋白质都位于糖酵解的下游, 这意味着糖酵解在硼缺乏的根中受到抑制^[11].

番茄红素是成熟水果中的主要色素,在抗氧化、清除自由基方面具有重要的作用^[12].在高等植物的果 实中,番茄红素的生物合成和代谢是一个复杂的过程,涉及一系列生理生化反应和各种基因的参与,其中 类胡萝卜素生物合成途径基因的转录调控是番茄红素积累的关键机制^[13].从转录组水平上研究硼对作物 营养和风味品质的影响,有助于从宏观上整体把握硼对作物风味品质的影响及主要分子机制.有研究发 现,硼缺乏导致 12 种与碳水化合物代谢相关的蛋白质改变,这些蛋白质主要参与糖酵解、三羧酸循环和戊 糖磷酸途径,在与糖酵解相关的 9 种改变的蛋白质中,有6 种蛋白质下调,3 种蛋白质上调^[11].缺硼处理 下嫁接在不同砧木上的纽荷尔脐橙参与叶绿素分解的基因、类胡萝卜素合成的基因、葡萄糖合成的基因等 表达差异非常显著^[14].硼毒胁迫下的大麦大部分差异表达产物与细胞壁、蛋白激酶^[15]等有关.以上研究结 果都为从转录水平对植物响应硼处理的机制研究拓展了思路.本试验基于课题组前期研究,以重庆地区番 茄应用较为广泛的2个品种'凯丰'和'红丽'为试验材料,采用大田试验研究了硼诱导下2个番茄品种的转 录代谢信息差异,以及硼对番茄果实糖代谢关键酶基因、番茄红素合成代谢关键酶基因表达水平的影响. 同时,采用 Pearson 分析方法,研究番茄果实糖代谢关键酶基因、番茄红素合成代谢关键酶基因表达与糖 和番茄红素含量之间的相关性,以期为番茄品质改良提供资料积累.

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

该试验在日光温室进行.供试土壤的基础理化性质包括: pH(水/土=1/1)为 6.86,土壤有机质 为 10.78 g/kg,全氮为 1.20 g/kg,碱解氮为 161.00 mg/kg,有效磷为 410.20 mg/kg,速效钾为 397.30 mg/kg,有效硼为 0.14 mg/kg;番茄品种为'凯丰'和'红丽','凯丰'和'红丽'的外形横径、 纵径大小相似,在不同时期其果实糖含量相差很小,番茄红素含量亦相差不大.

1.2 试验方法

本试验硼元素质量浓度参照郭世荣^[16]研究,设置了5个质量浓度的硼砂(0、1、2、4和8mg/L),硼元 素质量浓度分别为0mg/L、0.11mg/L、0.23mg/L、0.45mg/L和0.90mg/L,记作CK、B1、B2、B3和 B4.采用叶面喷施,硼砂喷施量为当地农户常规叶面肥用量,约为750mg/hm^{2[17]}.每个处理重复3次,随 机排列,每个重复1株.

番茄栽培种植日常管理由当地人员负责,管理一致.在第一穗果膨大期开始喷施第一次,以后间隔 2 周喷施 1 次,总共喷施 3 次,所有处理中的喷洒都由同一个人进行.在 3 次喷施过后,取第三穗成熟期果 实,先用自来水冲洗干净,然后用去离子水清洗 3 次.一部分鲜样用于糖和番茄红素测定;一部分放于超 低温冰箱-80 ℃保存,用于测定果实硼形态;剩余样品在实验室干燥器 105 ℃下杀青 15 min,分离根、茎、 叶和果实,60 ℃下烘干称质量,然后在配有塑料外壳和不锈钢刀片的家用混合器中均质粉碎,用于测得硼 含量.经实验分析,B2 处理对番茄果实生长、营养及风味综合影响最大.故选用 CK、B2 处理的'凯丰'和 '红丽'2 个品种番茄成熟期果实用于转录组分析.

1.3 测定指标与方法

1.3.1 土壤基本理化性质、番茄糖组分、番茄红素及硼含量分析

pH采用土水比1:1的方法测定;土壤有机质、全氮、碱解氮、有效磷、速效钾等基本理化指标用常规 方法测定^[18].采用高效液相色谱法测定糖组分及番茄红素含量^[19-20].

1.3.2 转录组测序

1.3.2.1 总 RNA 提取、cDNA 文库构建及 Illumina 测序

成熟期番茄果实用于总 RNA 提取、mRNA 纯化、cDNA 文库构建及高通量测序,cDNA 文库构建及 高通量测序由深圳华大基因股份有限公司支持完成.基本过程为:用 mRNA 富集法对总 RNA 进行处理, 用打断 buffer 把获得的 RNA 片段化,结合 cDNA 二链形成双链 DNA,双链 DNA 处理过后进行 PCR 扩 增、热变形成单链得到单链环状 DNA 文库,将检测合格的文库进行 Illumina 测序.

1.3.2.2 RNA-seq 分析

原始测序数据首先通过 SOAPnuke 1.4.0 软件去除接头及低质量的序列,之后利用 Hisat 2.1.0 将获得 clean reads 比对到番茄参考基因组,使用 Bowtie 2 将 clean reads 比对到基因组序列上,然后使用 RSEM 计算各个样品的基因表达水平.通过 DESeq 2 软件进行样品组间差异表达分析,将满足 | log₂ Fold

Change |>1 且 FDR < 0.05 的基因定义为差异表达基因(DEG),并对差异表达基因进行 GO(Gene Ontology)功能注释及 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)富集分析^[21].

1.3.2.3 数据的质控与比对

分别取'凯丰'(代号 KF)、'红丽'(代号 HL)2个品种番茄在 CK、B2 处理后的成熟期果实进行转录组 测序. KF-CK、KF-B2、HL-CK 和 HL-B2 分别获得 47.33、47.33、47.33 和 46.74 百万条 Raw Reads. 原 始测序数据去除接头及低质量的数据后,每个文库分别获得 43.84~45.47 百万条 Clean Reads,进一步的 高质量碱基统计发现 Clean Reads 的 Q20 和 Q30 分别在 96.78%~97.80%和 91.60%~94.15%之间.将 Clean Reads 比对到番茄参考基因组上,比对率在 86.63%~94.91%之间(表 1).以上结果说明,测序数据 对比较好,质量较好,可以进行下一步分析.

长日夕	Total Raw	Total Clean	Total Clean	Clean Reads	Clean Reads	Mapped
任即名	Reads/M	Reads/M	Bases/Gb	$Q20/\frac{9}{0}$	$Q30/\frac{9}{0}$	Ratio/%
KF-CK-1	47.33	45.25	6.79	96.81	91.73	93.39
KF-CK-2	47.33	45.08	6.76	97.13	92.45	93.88
KF-CK-3	47.33	44.40	6.66	96.92	92.13	86.63
KF-B2-1	47.33	45.47	6.82	97.00	92.13	94.91
KF-B2-1	47.33	45.12	6.77	96.78	91.60	93.66
KF-B2-1	47.33	45.12	6.77	97.09	92.35	93.89
HL-CK-1	49.08	45.08	6.76	97.80	94.15	89.13
HL-CK-2	45.57	43.91	6.59	96.89	91.92	94.26
HL-CK-3	47.33	45.26	6.79	97.00	92.15	94.09
HL-B2-1	45.57	43.84	6.58	97.07	92.31	94.58
HL-B2-2	47.33	44.94	6.74	97.18	92.55	92.79
HL-B2-3	47.33	45.16	6.77	97.01	92.12	94.26

表 1 转录组测序数据的过滤及比对统计分析

1.3.3 番茄果实糖代谢及番茄红素合成代谢关键酶基因表达研究

1.3.3.1 总 RNA 提取与质量检测

本试验番茄果实材料的总 RNA 采用北京全式金生物技术股份有限公司 TransZol Up Plus RNA Kit 抽提试剂盒提取,提取出的一部分 RNA 用于 RNA 的质量检测,剩余的 RNA 保存在-80 ℃冰箱中以待进一步纯化和反转录.

1.3.3.2 RNA 的纯化与反转录

使用北京全式金生物技术股份有限公司反转录试剂盒(TransCript One-Step Gdna Removal and cDNA Synthesis SuperMix)进行 RNA 反转录. 首先去除残存基因组 DNA,再按照试剂盒进行 RNA 反转录反应. 反转录所合成的 cDNA 置于-20 ℃条件下保存.

1.3.3.3 引物及目标基因的 qRT-PCR 分析

番茄糖代谢关键酶基因和番茄红素合成关键酶基因的 qRT-PCR 引物如表 2. 用 ddH₂O 将反转录产物 cDNA 稀释 3 倍,荧光定量 PCR 采用 Power Up TM SYBRTM Green Master Mix(Applied Bio systems, Vilnius, Lithuania)试剂盒以及荧光定量 PCR 仪(Quant Studio TM 1 System, USA)进行测量. 具体 PCR 反应程序为: 95 ℃预变性 10 min, 95 ℃变性 30 s, 60 ℃退火 30 s, 40 个循环; 60 ℃上升至 95 ℃检测产物 溶解曲线. 所有试验重复 3 次. 用 2^{-ΔΔCT} 的方法计算目标基因的相对表达量, CT 值表示荧光信号达到设定 阈值所经历的反应循环数. 其中 PCR 反应体系如表 3 所示.

甘田友安	引物序列(5'-3')						
	正向引物	反向引物	参考文献				
PSY	GGGCGGCCATTTGACAT	AATGGCTGAATATCAACTGGAAAGT	参考文献[22]				
PDS	GCTTTACCCGCTCCTTTA	ACCTTGCTTTCTCATCCA	参考文献[22]				
Z-ISO	CCTTCTTCTTCCTATACCCGTCG	AGCGTGTGAGCTAAGCACCA	参考文献[22]				
ZDS	GGTGGGTGCTGAAAAAAAT	GGAAAGCGGAAATCAAGTT	参考文献[22]				
CrtISO	AATGCTGGTAGCATCGCTC	ATTCCGCCAAAATGTCTGTCAC	参考文献[22]				
LYCB	CGACGTGATCATTATCGGAGC	GTG GTGAAGGGTCAACACAACA	参考文献[22]				
LYCE	GCCACAGGTTATTCAGTCGTCA	CCAGTCCAAATAGGAAAAACGAT	参考文献[22]				
SPS	CGACGTGATCATTCTGA	GTCTTCATCCTCAACAACAA	参考文献[23]				
SS	GCTCAAGGACAGGACTAA	GCTCATACATCTTCTTCATCTC	参考文献[23]				
AI	CGGAATTGGGTGGAAT	CGGAATTGGATTGTGGAAT	参考文献[23]				
NI	GCGTATAATCACCTGGTAGC	GAATCCACTGCCTTCTTAG	参考文献[23]				
AA	GAAGAGTTATGGAGATTGAAGG	ATGGATGAGTAAGAATGTATGC	参考文献[23]				
BA	GCTCCGTTATCCATCCTAT	CACCACCTTCCTTCTTGA	参考文献[23]				
Action	TGTCCCTATCTACGAGGGTTATGC	AGTTAAATCACGACCAGCAAGAT	参考文献[23]				

表 2 引物序列

表 3 qRT-PCR 反应体系

试剂	体积/μL	试剂	体积/μL
cDNA	2	Primer-Reverse(10uM)	0.4
ddH2O	7.2	$2 \times SYBR$ Green Mix	10
Primer-Forward(10uM)	0.4	Total	20

1.4 数据处理与统计分析

试验数据采用平均值士标准差表示.利用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 采用 Fisher least significant difference(LSD)检测法进行不同处理均值的差异显著性比较,显著差异水平为 $p \leq 0.05$.

2 结果分析

2.1 供硼水平对番茄果实糖分组分及含量的影响

糖是重要的营养成分,糖分的不同种类、含量、分布的时序和空间定位的变化对果蔬风味品质的形成具 有非常重要的作用^[6].由图 la 可知,在绿熟期,随着供硼水平的增加,'凯丰'和'红丽'2个品种番茄的蔗糖含 量呈现先增加后减少的趋势.在 B2 处理条件下,'凯丰'蔗糖含量达到最大值,为 25.71 mg/L,是对照的 1.56 倍;'红丽'在 B3 处理下达到最大值,为 25.66 mg/L,是对照的 1.36 倍.在成熟期,低浓度硼处理 B1 对'凯 丰'蔗糖含量有增加作用,其他浓度的处理降低了蔗糖含量.'红丽'在 B2 处理下蔗糖含量低于对照,在其他处 理下蔗糖含量都高于对照,在 B3 处理下达到最大值.由图 lb 可知,在绿熟期对'凯丰'和'红丽'的果糖含量的 影响不一致.'凯丰'的果糖含量先增加后减少,在 B3 时达到最大值,为 29.46 mg/L,是对照的 1.20 倍;'红 丽'的果糖含量先增加再减少然后再增加,在高浓度处理时,其果糖含量显著高于对照.在成熟期随着供硼水 平的增加,'凯丰'和'红丽'的果糖含量分别呈现先减少再增加后减少和先增加后减少再增加的趋势,'凯丰' 果糖含量在 B3 时达到最大值,为 43.83 mg/g,是对照的 1.12 倍,'红丽'果糖含量在 B1 时达到最大值,为 39.03 mg/g,由图 lc 和图 ld 可知,随着供硼水平的增加,番茄绿熟期果实的可溶性总糖含量和淀粉含量都呈 现先增加后减少的趋势,与对照相比较,'凯丰'的可溶性总糖含量在 B2 处理下具有显著性差异,是对照的 1.09 倍.在成熟期,番茄的可溶性总糖含量和淀粉含量整体上都呈现先增加后减少的趋势,与对照相比,'凯 丰'和'红丽'的淀粉含量各处理之间没有显著性差异.以上结果表明,适宜的硼处理可以增加绿熟期、成熟期 的番茄果实蔗糖、果糖、可溶性总糖和淀粉含量,且两个时期的变化趋势相似.从整体上来看,B2 处理对绿熟 期、成熟期的'凯丰'整体效果最好,B3 处理对绿熟期、成熟期的'红丽'整体效果最好.











供硼水平/(mg·L⁻¹)





d. 供硼水平对番茄果实淀粉含量的影响

KF-L: 凯丰-绿熟期; KF-C: 凯丰-成熟期; HL-L: 红丽-绿熟期; HL-C: 红丽-成熟期. 不同小写字母表示不同供硼处理间的差异显著性 (*p*<0.05). 下同.

图 1 供硼水平对番茄果实蔗糖、果糖、可溶性总糖和淀粉含量的影响

2.2 供硼水平对番茄果实番茄红素含量的影响

番茄红素是成熟水果中的主要色素,在抗氧化、清除自由基方面具有重要的作用^[12].有研究认为,番茄红素作为类胡萝卜衍生的香气化合物,可能是决定一些香气的关键代谢物质^[24].为此进一步通过 HPLC 法研究硼处理对 2 个品种番茄的番茄红素含量的影响.由图 2 可知,随着供硼水平的增加,'凯丰'在绿熟 期和'红丽'在成熟期的番茄红素含量都呈现先增加后减少的趋势.在绿熟期,2 个品种的番茄红素含量 在各处理间都没有达到显著性差异,在成熟期,'红丽'的番茄红素各处理间有显著性差异.在绿熟期,与对照相比,'凯丰'的番茄红素含量都在增加,在 B2 处理下达到最大值,为 29.96 µg/g,整体上增加了 0.1%~1.3%;'红丽'在 B2、B4 处理下分别增加了 0.6%和 1.1%,然而'红丽'的番茄红素含量都在 B1 和 B3 处理下低于对照,但差异不显著.在成熟期,'凯丰'和'红丽'的番茄红素含量都在 B2 处理下达到最大值,分别为 245.80 µg/g 和 277.13 µg/g.

350

300

250

200

150

100

50

0

CK

B1

番茄红素含量/(mg·g⁻¹)





供硼水平/(mg·L⁻¹) b. 供硼水平对番茄果实成熟期番茄红素含量的影响

B2



2.3 差异表达基因的分析

第1期

以 | log₂ Fold Change | >1 且 FDR < 0.05 为差异基因筛选标准进行筛选,对差异基因进行统计分 析(图 3a),结果表明,在'凯丰'CK 和'凯丰'B2 之间有 20 个差异基因(13 个上调表达,7 个下调表 达),'红丽'CK 和'红丽'B2 之间有 261 个差异基因(100 个上调表达,161 个下调表达),'凯丰'CK 和'红丽'CK 之间有 59 个差异基因(45 个上调表达,14 个下调表达),'凯丰'B2 和'红丽'B2 之间有 158 个差异基因(73 个上调表达,85 个下调表达).利用 Veen 图对差异基因进行分析,结果表明(图 3b), KF-CK-vs-KF-B2 与 HL-CK-vs-HL-B2 存在共有差异表达,KF-CK-vs-HL-CK 和 KF-B2-vs-HL-B2 存在 2 个差异基因表达.



2.4 差异表达基因 GO 分析

为了进一步研究差异基因参与的代谢通路及生物学功能,对所有样本间差异基因进行 GO 分析. GO 分类分析结果表明(图 4),在 2 个番茄品种中,这些差异表达基因均主要富集在代谢过程(Metabolic process)、细胞过程(Cellular process)、膜(Membrane)、膜组分(Membrane part)、催化活性(Catalytic activity)、结合(Binding)、生物调控(biological regulation)和生物过程调控(regulation of biological process). 如图 4a,在'凯丰'品种中,差异基因富集在代谢过程、细胞过程、生物调控、生物过程调控、膜、膜组分、催化活性和结合的差异表达基因分别有 4、4、2、1、6、6、9 和 7 个;如图 4b,在'红丽'品种中,差异基因 富集在代谢过程、细胞过程、生物调控、生物过程调控、膜、膜组分、催化活性和结合的差异表达基因分别 有 45、38、20、16、42、38、65 和 75 个.

□ KF-C ■ HL-C

B3

B4



图 4 差异表达基因的 GO 功能富集分析

2.5 差异表达基因 KEGG 通路分析

为了分析 DEG 在果实发育过程中的功能,基于 KEGG 数据库对差异表达基因进行 KEGG 富集分 析(图 5).如图 5a,KF-CK-vs-KF-B2 的差异基因被富集到 12 个通路中,除了主要富集在氨基酸的生物 合成(Biosynthesis of amino acids),黄酮类生物合成(Flavonoid biosynthesis),苯丙烷生物合成(Phenylpropanoid biosynthesis),甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(Glycine, serine and threonine metabolism),其他聚糖 降解(Other glycan degradation)等代谢通路外,与番茄红素合成代谢相关的通路也呈现出显著富集,如泛 醌和其他萜类醌的生物合成(Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis).如图 5b,HL-CK-vs-HL-KF 的差异基因被富集在 20 个通路中,除了主要富集在植物-病原体相互作用(Plant-pathogen interaction),苯丙烷生物合成(Phenylpropanoid biosynthesis),氨基糖和核苷酸糖代谢(Amino sugar and nucleotide sugar metabolism),黄酮类生物合成(Flavonoid biosynthesis),丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism)等代谢通路外,与番茄红素合成代谢相关的通路也出现显著富 集,如二萜生物合成(Diterpenoid biosynthesis).与糖合成代谢相关的通路也呈现出显著富集,如戊糖磷 酸途径(Pentose phosphate pathway)、柠檬酸循环(TCA 循环)(Citrate cycle)和半乳糖代谢(Galactose metabolism)等.

2.6 供硼水平对番茄糖代谢关键酶基因表达水平的影响

通过转录组分析,结合番茄果实中糖组分含量差异,进一步检测了与糖分合成代谢相关酶基因 AA、 BA、NI、AI、SPS 和 SS 的表达水平.如图 6 所示,在绿熟期,与对照相比,'凯丰'AA 基因表达量在 B3 处理时下调;'红丽'的 AA 基因表达量整体上调,在 B3、B4 处理下提高了 1.52、1.19 倍.与对照相 比,绿熟期 2 个品种番茄的 BA 基因表达量都整体上调表达,是对照的 1~3.43 倍('凯丰')和 1~3.13 倍('红丽').在成熟期,与对照相比,'凯丰'AA 基因整体上调表达,表达量先增加后减少,在 B1、B2 处理下分别是对照的 2.06 倍和 3.33 倍;'红丽'的表达量先后减少增加,在 B3 下调表达.成熟期 2 个 品种番茄的 BA 基因都呈下调表达趋势.





a. 不同供硼水平对番茄果实AA基因表达量的影响

b. 不同供硼水平对番茄果实BA基因表达量的影响

B3

B4

图 6 不同供硼水平对番茄果实 AA、BA 基因表达量的影响

由图 7 可知,在绿熟期,2 个品种的 AI 基因表达水平均随着供硼水平的增加而先上调再下调,分别在 B3 和 B2 处理下表达量最大,分别较对照提高了 0.61、0.84 倍; 与对照相比, 2 个品种番茄的 NI 基因表 达量均整体上调,表达量是对照的 0.76~3.01 倍('凯丰')和 0.5~1.79 倍('红丽'). 在成熟期, 2 个品种 番茄的 AI 基因、NI 基因表达量整体下调,品种间差异显著.

由图 8 可知,在绿熟期,与对照相比,'凯丰'的 SPS 基因表达下调,'红丽'表达上调,2 个品种番茄 的 SS 基因表达均上调,分别是对照的 1~2.86 倍('凯丰')和 1~6.3 倍('红丽').在成熟期, '凯丰'SPS 基因表达量整体下调; '红丽'的 SPS 基因表达水平在成熟期随着供硼水平的增加呈先降低后增加的趋势. 成熟期 2 个品种番茄的 SS 基因表达量均下调,分别在 B1 达到最小值 0.56('凯丰'), B2 达到最小值 0.11 ('红丽').

2.7 供硼水平对番茄红素合成代谢关键酶基因表达水平的影响

进一步检测与类胡萝卜素生物合成代谢途径相关的 PSY、PDS、Z-ISO、ZDS、CrtISO、LYCB、 LYCE 基因的表达情况. 通过 qPCR 检测发现, 硼对 2 个品种番茄果实绿熟期和成熟期的 PSY、PDS、 Z-ISO、ZDS、CrtISO、LYCB、LYCE 基因的表达量有显著影响. 由图 9 可知,在绿熟期, 2 个品种番茄

b. '红丽'差异表达基因KEGG pathway富集分析 的 PSY 表达量随供硼水平的增加整体呈先增加后减少的趋势('红丽'的 B4 除外).与对照相比,'红丽' PSY 基因表达量在 B2、B4 分别上调了 1.23 倍和 1.56 倍.在成熟期,2 个番茄品种的 PSY 基因表达量变 化趋势一致,基本趋于稳定.在绿熟期,2 个品种番茄的 PDS 基因表达量随供硼水平的增加呈现先增加后 减少的趋势.在绿熟期,与对照相比,'红丽'PDS 基因表达量上调,在 B2 处理时表达量上调了 2.40 倍,

而'红丽'PDS 基因表达量在 B3、B4 处理下出现了下调. 在成熟期, 2 个品种番茄 PDS 基因表达量均下 调,除了'红丽'在 B1 处理外,但各处理变化不显著. 在绿熟期, 2 个品种番茄的 ZDS 基因表达量随供硼水 平的增加均呈现先增加后减少的趋势. 在绿熟期,与对照相比, 2 个品种番茄的 ZDS 基因表达量分别上调 了 1~3.51 倍('凯丰'),1~2.16 倍('红丽'),'凯丰'在 B3 达到最大值,'红丽'在 B2 值达到最大值. 在成 熟期,除了'凯丰''红丽'的 ZDS 基因表达量分别在 B2、B1 处理时上调外,其余处理下调. 综上可知,2 个 品种番茄的 PSY、PDS、ZDS 基因表达量在绿熟期变化显著.



a. 不同供硼水平对番茄果实AI基因表达量的影响

b. 不同供硼水平对番茄果实NI基因表达量的影响







b. 不同供硼水平对番茄果实SS基因表达量的影响

图 8 不同供硼水平对番茄果实绿熟期、成熟期 SPS、SS 基因表达量的影响

由图 10 可知,与对照相比,'凯丰'在两个时期 CrtISO 基因表达量下调,'红丽'在绿熟期 B2 和 B4 上 调,在成熟期 B1 上调,各处理间差异明显.2 个品种番茄的 Z-ISO 基因表达量在绿熟期随供硼水平的增 加均先增加后减少.2 个品种番茄 Z-ISO 基因表达量分别在 B1、B2 处理时上调,在 B4 处理时下调;在成 熟期,2 个品种番茄果实 Z-ISO 基因表达量上调,其表达量分别在 B3、B2 处理下达到最大值,是对照的 2.10 倍('凯丰')、2.11 倍('红丽').



a. 不同供硼水平对番茄果实PSY基因表达量的影响



b. 不同供硼水平对番茄果实PDS基因表达量的影响



供硼水平/(mg·L-1)

c. 不同供硼水平对番茄果实ZDS基因表达量的影响



图 9 不同供硼水平对番茄果实 PSY、PDS、ZDS 基因表达量的影响

a. 不同供硼水平对番茄果实CrtISO基因表达量的影响

b. 不同供硼水平对番茄果实Z-ISO基因表达量的影响

图 10 不同供硼水平对番茄果实 CrtISO、Z-ISO 基因表达量的影响

由图 11 可知, "凯丰"的 LYCB 基因表达水平除了在 B1 和成熟期 B4 上调,其余都下调. "红丽"的 LYCB 基因表达量在绿熟期较对照提高了 0.45~1.29 倍,在成熟期 LYCB 基因表达水平只有在 B1、B4 上 调.2 个品种番茄的 LYCE 基因表达量变化趋势与 LYCB 基因相似.

综上所述,在适宜的硼处理后,绿熟期番茄的 PSY、PDS、ZDS、CrtISO 基因表达量上调,Z-ISO 表达量在成熟期上调,LYCB 和 LYCE 基因表达量整体上在绿熟期、成熟期下调,进而提高了番茄红素合成





a. 不同供硼水平对番茄果实LYCB基因表达量的影响



图 11 不同供硼水平对番茄果实绿 LYCB、LYCE 基因表达量的影响

2.8 番茄糖代谢关键酶基因表达与果实糖含量的相关性研究

由表4可知,在硼处理过后,番茄果实糖含量和糖代谢关键酶基因表达水平之间存在不同程度的相关性. 蔗糖与糖代谢关键酶相关基因表达水平呈负相关(-0.505 $\leqslant r \leqslant$ -0.360, AA 除外),尤其与 BA (r=-0.505)、NI(r=-0.504)和 SPS(r=-0.476)呈显著负相关.果糖与 AA(r=0.259)呈相关, 与其他基因表达水平呈负相关(-0.508 $\leqslant r \leqslant$ -0.332).可溶性总糖与 BA(r=0.626)、NI(r=0.567)的相关系数较高,呈极显著正相关.可溶性总糖与 AI、SPS 和 SS 呈正相关(0.386 $\leqslant r \leqslant$ 0.473),与 AI (r=0.473)、SPS(r=0.463)呈显著相关.淀粉与 BA(r=0.711)呈极显著正相关,与 NI(r=0.532)、AI(r=0.538)呈显著正相关,只与 AA(r=-0.218)呈负相关.

	蔗糖	果糖	可溶性总糖	淀粉	AA	BA	NI	AI	SS	SPS
蔗糖	1									
果糖	0.825 * *	1								
可溶性总糖	-0.871**	-0.748**	1							
淀粉	-0.876**	-0.876**	0.907**	1						
AA	0.139	0.259	-0.137	-0.218	1					
BA	-0.505*	-0.498*	0.626 * *	0.711 * *	-0.156	1				
NI	-0.504*	-0.356	0.567**	0.532*	-0.239	0.532*	1			
AI	-0.396	-0.415	0.473*	0.538*	-0.367	0.639**	0.369	1		
SS	-0.360	-0.508*	0.386	0.398	-0.091	0.563**	0.171	0.419	1	
SPS	-0.476*	-0.332	0.463*	0.394	0.215	0.384	0.203	0.498*	0.561*	* 1

农• 由加始代谢入磋时坐凶农处与未大惦占里问的伯人?	加椐代谢大键呣基囚衣达与朱头椐宫重囘肑怕大杀	数
----------------------------	------------------------	---

注:**表示在 0.01 水平上差异具有统计学意义;*表示在 0.05 水平上差异具有统计学意义.下同.

2.9 番茄红素合成代谢相关基因与番茄红素含量的相关性研究

为了探讨在硼处理下番茄红素含量与番茄红素合成代谢相关基因的表达量的相关性,本文进行了 Person分析,相关结果如表5所示.番茄红素含量与PSY、CrtISO、LYCB和LYCE相对表达量呈正相关 关系,其相关系数分别为0.154、0.147、0.265和0.123,但相关性都未达到显著水平.番茄红素含量与 PDS、ZDS和Z-ISO相对表达量呈负相关关系,相关系数分别为-0.128、-0.347和-0.024,同时其相 关性也都未达到显著水平.

	番茄红素	PSY	PDS	ZDS	CrtISO	Z-ISO	LYCB	LYCE
番茄红素	1							
PSY	0.154	1						
PDS	-0.128	0.285	1					
ZDS	-0.347	0.465*	0.698**	1				
CrtISO	0.147	0.706**	0.444*	0.578**	1			
Z-ISO	-0.024	-0.249	-0.066	-0.190	-0.379	1		
LYCB	0.265	0.333	0.177	-0.081	-0.038	-0.381	1	
LYCE	0.123	-0.250	-0.362	-0.340	-0.579**	-0.068	0.227	1

表 5 番茄红素合成代谢相关基因表达量与番茄红素含量间的相关系数

3 讨论

甜度作为水果风味的重要组成部分,番茄果实的甜度主要由葡萄糖和果糖的含量决定,果糖的甜度是 葡萄糖的2倍,提高番茄中果糖的含量可以增加果实甜度,从而改善果实风味^[5-6].不同发育期番茄果实糖 分含量差异较大,为此对番茄果实在绿熟期、成熟期糖分含量进行了相关研究.结果表明,适宜的硼处理 (2 mg/L)能够提高绿熟期番茄果实中蔗糖、果糖和可溶性总糖的含量,而在成熟期,'凯丰'和'红丽'番茄 果实中糖组分含量受到硼影响有差异,但总体上都是先增加后减少.这与徐龙水^[25]研究发现适宜硼肥能提 高番茄中可溶性糖含量结论一致.Hegazi等^[26]对橄榄果实喷施不同浓度硼肥,发现适宜的硼肥能提高可 溶性总糖含量,其研究也与本文试验结果相同.

番茄红素是番茄果实的关键成分,因为它与番茄果实对人类健康的保护作用有关,并且主要负责番茄 果实的红色.番茄果实的番茄红素含量受栽培品种^[27]、成熟期^[13]、农艺因素^[28]和加工的影响.番茄红素裂 解后会影响挥发性物质的合成,为此进一步检验了番茄果实中番茄红素的含量.已有研究发现,叶面喷施 硼肥会导致番茄果实中番茄红素含量、类胡萝卜素含量都呈先增加后减低的趋势^[29].本文研究发现,在不 同供硼水平处理下'凯丰'和'红丽'的番茄红素含量在绿熟期和成熟期表现出相似的变化趋势,均为先增后 降,适宜的硼处理 B2 下能明显增加番茄红素含量,这与上述已有研究结果一致. 邵旭日等^[30]在番茄叶面 喷施不同浓度硒肥后,发现随着供硒水平的增加,番茄红素含量先增加(0~7 g)后减少(7~10 g),番茄红 素也随着发育期的进行而积累,这与本研究结果一致. 另外 Mallick 等^[31]通过基施硼肥也发现不同硼水平 对番茄果实番茄红素含量的影响极显著(*p*<0.01),其中适宜硼处理(2.0 kg/hm²)的番茄果实中番茄红素 含量最高,为 3.39 mg/100 g.

转录组代谢信息分析发现,凯丰'(KF-CK-vs-KF-B2)和'红丽'(HL-CK-vs-HL-KF)存在 20 和 261 个 差异基因,在 GO 分析中,这些差异基因主要富集在生物过程,说明施硼后对番茄果实成熟期的物质代谢 影响较大.此外,差异基因还主要富集在催化活性、代谢过程和膜.这与李巍^[32]在低硼和正常硼处理的油 菜品种差异表达基因研究中发现其主要富集在细胞膜、细胞核,分子功能主要涉及催化活性、转移酶活性 一致.KEGG 分析发现,差异基因共同富集在黄酮类生物合成、苯丙烷生物合成、氨基酸的合成代谢中. 番茄氨基酸合成代谢主要富集在甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,番茄红 素合成代谢主要富集在泛醌和其他萜类醌的生物合成中,与糖合成代谢相关的通路也出现富集,如其他聚 糖降解.有研究发现,葡萄糖的合成基因(CsSIP、CsCWINV、CsTREH 和 CsTPS)、类胡萝卜素合成基 因(CsCrtR-b 和 CsCrtL-e)表达的差异都非常显著,说明这些基因与脐橙应对缺硼胁迫有关^[14].另有国外 学者对硼毒胁迫下的大麦进行转录组学分析发现,根、叶组织中有 16%~107%的转录产物是差异表达的,大多数与细胞壁、膜、蛋白激酶的形成及胁迫反应、转运机制有关^[15]. 果实成熟是一个复杂的过程,以碳水化合物的积累为特征,碳水化合物为果实提供能量并影响风味^[33-34].糖是植物生长能量的碳源,在果实中转化为各种代谢物^[35].各种生理、代谢和遗传过程综合导致糖分积累^[36].蔗糖磷酸合酶(sucrose-phosphate synthase, SPS)通过糖代谢途径在控制蔗糖通量方面发挥着重要作用^[37],它有助于番茄中蔗糖的积累和高糖含量的建立,在蔗糖积累过程中 SPS 表达水平增加进一步支持了这一结果^[38].当蔗糖水解酶(AI、NI和SS)活跃时,蔗糖代谢增加,相应基因的表达水平受到调节^[39].本研究进行适宜的硼处理后,在绿熟期,2个品种番茄的 SS、NI、AI、BA 和 AA 基因表达水平上调;在成熟期,这些基因表达量下调,但变化不显著.这与已有的研究,不同酶的活性和与蔗糖代谢相关基因的表达水平与番茄收获后成熟过程中不同的糖水平(蔗糖、果糖和葡萄糖)一致的结果相同^[40],这说明适宜的硼能够诱导糖分相应基因的表达水平.同时,在本研究中发现糖含量与糖代谢关键酶基因表达水平之间的相关性是多种多样的,果糖、蔗糖整体上与相关基因的表达水平呈负相关,可溶性总糖与相关基因的表达水平呈正相关.

在高等植物的果实中,番茄红素的生物合成和代谢是一个复杂的过程,涉及一系列生理生化反应和各种基因的参与^[41],其中类胡萝卜素生物合成途径基因的转录调控是番茄红素积累的关键机制^[13].在本研究的前期,发现适宜的供硼处理明显增加了番茄红素含量的积累.硼对番茄果实中番茄红素积累的分子机制尚未阐明,为此进一步研究了类胡萝卜素生物合成途径基因表达,发现适宜硼处理后番茄果实在绿熟期的*PSY、PDS、ZDS和CrtISO*的表达量增加,而在成熟期,各个基因表达量变化不大.*Z-ISO*基因表达量在绿熟期变化不显著,在成熟期显著上调表达,从而一定程度上促进番茄红素的积累.此外,当番茄果实完全成熟时,全反式番茄红素转化为 β -胡萝卜素和 α -胡萝卜素,分别由番茄红素 β -环化酶(*LCY-\beta*)和番茄红素 ϵ -环化酶(*LCY-\epsilon*)催化^[42-43].在本研究中,适宜的硼处理(B2-B3)下调*LYCB*和*LYCE*的表达,降低了番茄红素的转化效率,从而减少了 β -胡萝卜素和 α -胡萝卜素的含量.有其他的研究也证明了只有适宜的胁迫才能明显上调番茄红素合成基因的表达,同时会下调*LYCB*和*LYCE*基因的表达^[44].在本试验中番茄果实番茄红素含量与*PSY*和*CrtISO*基因表达呈正相关,与*PDS、ZDS*和*Z-ISO*基因表达

4 结论

微量元素硼参与作物的光合作用、细胞壁的合成、糖的转化和运输等多种生物代谢过程.本试验 中,随着供硼水平的增加,2个品种番茄的小区产量均呈现增加趋势,"凯丰'和'红丽'产量分别较对照 提高了 27.3%~67.2%和 22.2%~86.2%."凯丰'蔗糖含量在 1 mg/L 硼砂处理时达到最大值,而'红 丽'在 2 mg/L 硼砂处理时达到最大值.在成熟期,"凯丰'和'红丽'的番茄红素含量在 1 mg/L 硼砂处理 时达到最大值.转录组分析发现,硼诱导下 2 个番茄品种的差异表达基因主要富集在生物过程中,涉及 黄酮类生物合成、苯丙烷生物合成和氨基酸的代谢,部分差异基因还富集在番茄红素合成代谢通路和糖分 合成代谢通路上.在绿熟期,2 个品种番茄的糖代谢关键酶基因 AA、BA、NI、AI、SPS 和 SS 基因表达 量整体上调,番茄红素合成关键酶基因 PSY、PDS、ZDS、CrtISO 基因表达量在绿熟期上调,Z-ISO 基 因表达量在成熟期上调,相关分析显示,可溶性总糖与 BA、NI 基因的表达水平呈正相关,番茄红素含量 与 PSY、CrtISO 基因表达量呈正相关.

参考文献:

[1] 姜哲轩,徐芳森. 植物硼营养高效的分子调控途径 [J]. 华中农业大学学报, 2023, 42(6): 43-49.

[2] 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

45(7): 107-122.

- [3] RIAZ M, KAMRAN M, EL-ESAWI M A, et al. Boron-Toxicity Induced Changes in Cell Wall Components, Boron Forms, and Antioxidant Defense System in Rice Seedlings [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 216: 112192.
- [4] WU X W, RIAZ M, YAN L, et al. Boron Deficiency in Trifoliate Orange Induces Changes in Pectin Composition and Architecture of Components in Root Cell Walls [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1882.
- [5] 苏静,祝令成,刘茜,等.果实糖代谢与含量调控的研究进展[J].果树学报,2022,39(2):266-279.
- [6] 尚乐乐,宋建文,王嘉颖,等.番茄果实品质形成及其分子机理研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2019(4): 21-28.
- [7] WANG G N, DITUSA S F, OH D H, et al. Cross Species Multi-Omics Reveals Cell Wall Sequestration and Elevated Global Transcript Abundance as Mechanisms of Boron Tolerance in Plants [J]. The New Phytologist, 2021, 230(5): 1985-2000.
- [8] 陈玲玲. 敖汉苜蓿小花与种子响应硼胁迫的蛋白质组学与代谢组学分析 [D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [9] SHKOL'NIK M Y, Il'INSKAYA N L. Effect of Boron Deficiency on the Activity of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in Plants with Different Boron Requirements. [J]. Fiziologiya Rastenij, 1975, 22(4): 801-805.
- [10] GARCIA-GONZÁLEZ M, MATEO P, BONILLA I. Effect of Boron Deficiency on Photosynthesis and Reductant Sources and Their Relationship with Nitrogenase Activity in Anabaena PCC 7119 [J]. Plant Physiology, 1990, 93(2): 560-565.
- [11] WANG Z H, WANG Z F, CHEN S S, et al. Proteomics Reveals the Adaptability Mechanism of *Brassica napus* to Short-Term Boron Deprivation [J]. Plant and Soil, 2011, 347(1): 195-210.
- [12] TIEMAN D, ZHU G T, RESENDE M F R Jr, et al. A Chemical Genetic Roadmap to Improved Tomato Flavor [J]. Science, 2017, 355(6323): 391-394.
- [13] SMITA S, RAJWANSHI R, LENKA S K, et al. Expression Profile of Genes Coding for Carotenoid Biosynthetic Pathway during Ripening and Their Association with Accumulation of Lycopene in Tomato Fruits [J]. Journal of Genetics, 2013, 92(3): 363-368.
- [14] LIU X A, ZHANG J W, GUO L X, et al. Transcriptome Changes Associated with Boron Deficiency in Leaves of Two Citrus Scion-Rootstock Combinations [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 317.
- [15] TOMBULOGLU G, TOMBULOGLU H, SAKCALI M S, et al. High-Throughput Transcriptome Analysis of Barley (Hordeum vulgare) Exposed to Excessive Boron [J]. Gene, 2015, 557(1): 71-81.
- [16] 郭世荣. 无土栽培学 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [17] 赵婉伊,姚云柯,徐卫红,等. 外源硒对茎瘤芥硒形态及硒吸收的影响 [J]. 食品科学, 2017, 38(1): 105-109.
- [18] 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.
- [19] 姚改芳,张绍铃,曹玉芬,等.不同栽培种梨果实中可溶性糖组分及含量特征 [J].中国农业科学,2010,43(20): 4229-4237.
- [20] 崔爽,白洁,李国婧,等.市售番茄和圣女果果实中番茄红素 HPLC 检测方法的研究 [J].内蒙古农业大学学报(自然 科学版),2016,37(2):62-66.
- [21] WU X L, DU A Q, ZHANG S H, et al. Regulation of Growth in Peach Roots by Exogenous Hydrogen Sulfide Based on RNA-Seq [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 159: 179-192.
- [22] 张勇. 番茄 SIIPT4 基因对叶片衰老和果实番茄红素合成的调控研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2018.
- [23] 董飞, 王传增, 任煜倩, 等. 光质对番茄果实中糖含量和代谢相关酶及基因表达的影响 [J]. 植物生理学报, 2018, 54(9): 1507-1515.
- [24] AONO Y, ASIKIN Y, WANG N, et al. High-Throughput Chlorophyll and Carotenoid Profiling Reveals Positive Associations with Sugar and Apocarotenoid Volatile Content in Fruits of Tomato Varieties in Modern and Wild Accessions [J]. Metabolites, 2021, 11(6): 398.
- [25] 徐龙水.不同供硼水平对番茄营养和风味品质的影响及机理研究 [D].重庆:西南大学,2022.

- [26] HEGAZI E S, EL-MOTAIUM R A, YEHIA T A, et al. Effect of Foliar Boron Application on Boron, Chlorophyll, Phenol, Sugars and Hormones Concentration of Olive (Olea europaea L.) Buds, Leaves, and Fruits [J]. Journal of Plant Nutrition, 2018, 41(6): 749-765.
- [27] JARQUÍN-ENRÍQUEZ L, MERCADO-SILVA E M, MALDONADO J L, et al. Lycopene Content and Color Index of Tomatoes are Affected by the Greenhouse Cover [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 155: 43-48.
- [28] LAHOZ I, PÉREZ-DE-CASTRO A, VALCÁRCEL M, et al. Effect of Water Deficit on the Agronomical Performance and Quality of Processing Tomato [J]. Scientia Horticulturae, 2016, 200: 55-65.
- [29] 徐炜南. 硼对番茄生长及果实风味品质的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [30] 邵旭日,韩莹琰,齐长红,等.叶面施用不同浓度的硒肥对番茄果实品质的影响 [J].蔬菜,2017(8):25-28.
- [31] MALLICK S, DAS R C, ZAKIR H M, et al. Effect of Zinc and Boron Application on Lycopene and Nutritional Qualities of Tomato [J]. Journal of Scientific Research and Reports, 2021: 27-36.
- [32] 李巍. 甘蓝型油菜响应低硼胁迫的转录谱分析及硼高效候选基因的挖掘 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015.
- [33] CHERIAN S, FIGUEROA C R, NAIR H. 'Movers and Shakers' in the Regulation of Fruit Ripening: A Cross-Dissection of Climacteric Versus Non-Climacteric Fruit [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(17): 4705-4722.
- [34] ZHU Z, LIU R L, LI B Q, et al. Characterisation of Genes Encoding Key Enzymes Involved in Sugar Metabolism of Apple Fruit in Controlled Atmosphere Storage [J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3323-3328.
- [35] QIN G Z, ZHU Z, WANG W H, et al. A Tomato Vacuolar Invertase Inhibitor Mediates Sucrose Metabolism and Influences Fruit Ripening [J]. Plant Physiology, 2016, 172(3): 1596-1611.
- [36] MOUNET F, MOING A, GARCIA V, et al. Gene and Metabolite Regulatory Network Analysis of Early Developing Fruit Tissues Highlights New Candidate Genes for the Control of Tomato Fruit Composition and Development [J]. Plant Physiology, 2009, 149(3): 1505-1528.
- [37] CAI X Z, WANG H S, PANG G C. Flux Control Analysis of a Lactate and Sucrose Metabolic Network at Different Storage Temperatures for Hami Melon (*Cucumis melo Var. Saccharinus*) [J]. Scientia Horticulturae, 2015, 181: 4-12.
- [38] BOTHA F C, BLACK K G. Sucrose Phosphate Synthase and Sucrose Synthase Activity during Maturation of Internodal Tissue in Sugarcane [J]. Functional Plant Biology, 2000, 27(1): 81-85.
- [39] JIANG H Y, LI W, HE B J, et al. Sucrose Metabolism in Grape (*Vitis vinifera* L.) Branches under Low Temperature during Overwintering Covered with Soil [J]. Plant Growth Regulation, 2013, 72: 229-238.
- [40] TAO X Y, WU Q, LI J Y, et al. Exogenous Methyl Jasmonate Regulates Sucrose Metabolism in Tomato during Postharvest Ripening [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 181: 111639.
- [41] LI L, LIU Z, JIANG H, et al. Biotechnological Production of Lycopene by Microorganisms [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(24): 10307-10324.
- [42] RONEN G, COHEN M, ZAMIR D, et al. Regulation of Carotenoid Biosynthesis during Tomato Fruit Development: Expression of the Gene for Lycopene Epsilon-Cyclase is Down-Regulated during Ripening and is Elevated in themutant Delta [J]. The Plant Journal, 1999, 17(4): 341-351.
- [43] CUNNINGHAM F X, SUN Z, CHAMOVITZ D, et al. Molecular Structure and Enzymatic Function of Lycopene Cyclase from the Cyanobacterium Synechococcus Sp Strain PCC7942 [J]. The Plant Cell, 1994, 6(8): 1107-1121.
- [44] XIE B X, WEI J J, ZHANG Y T, et al. Supplemental Blue and Red Light Promote Lycopene Synthesis in Tomato Fruits [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2019, 18(3): 590-598.
- [45] 刘英明,姜晶,王晶,等.番茄果实成熟过程中番茄红素含量及合成相关基因表达的分析 [J]. 植物生理学报,2013, 49(1):47-52.

责任编辑 任剑乔