

过表达*SICCD1A*基因调控番茄风味品质

娄茜棋¹, 孟良哲¹, 张清花¹, 程宝慧¹, 程国亭², 梁燕^{1,*}

(1.西北农林科技大学园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2.延安大学生命科学学院, 陕西 延安 716000)

摘要: 为研究番茄 (*Solanum lycopersicum*) 类胡萝卜素双加氧酶A (*Solanum lycopersicum* carotenoid cleavage dioxygenases A, *SICCD1A*) 基因对番茄果实风味品质的影响作用, 以樱桃番茄CI1005和大果番茄AC的*SICCD1A*-OE株系为研究对象。结合实时聚合酶链式反应技术鉴定转基因植株, 对转基因株系挥发物及主要品质性状进行测定。结果表明, 与野生型 (wild type, WT) 相比, *SICCD1A*-OE主要裂解果实番茄红素和 β -胡萝卜素, 提高6-甲基-5-庚烯-2-酮等11种异戊二烯类挥发性物质含量, CI1005的OE-3株系总含量最高可增至WT的5.68倍, AC的OE-8株系增至1.88倍, 果实花香、果香和甜感气味显著提升。CI1005型的OE-3株系可溶性固形物质量分数、总糖含量和糖酸比分别增至6.2%、37.34 mg/g和10.37, 总酸和VC质量浓度分别降低至0.36 mg/L和42.10 mg/mL; AC型的OE-7株系可溶性固形物质量分数、总糖含量和糖酸比分别增至4.77%、20.03 mg/g和5.23, 总酸和VC质量浓度分别降低至0.38 mg/L和37.10 mg/L, 使果实变得高甜低酸。*SICCD1A*基因有利于提升果实类胡萝卜素衍生挥发物的含量与丰富度, 还能增加可溶性固形物、总糖等水平, 提升番茄果实风味品质。

关键词: 番茄; 类胡萝卜素双加氧酶A; 挥发物; 风味品质

Overexpression of the Gene Encoding *Solanum lycopersicum* Carotenoid Cleavage Dioxygenase 1A (*SICCD1A*) Regulates Tomato Flavor Quality

LOU Qianqi¹, MENG Liangzhe¹, ZHANG Qinghua¹, CHENG Baohui¹, CHENG Guoting², LIANG Yan^{1,*}

(1. College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

2. School of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an 716000, China)

Abstract: *SICCD1A*-OE lines of cherry tomato CI1005 and large-fruited tomato AC were selected to investigate the effect of *SICCD1A* on tomato flavor quality. The transgenic plants were identified by real-time polymerase chain reaction (PCR), and the volatile components and major quality traits of the transgenic lines were determined. The results showed that *SICCD1A*-OE mainly cleaved lycopene and β -carotene in tomato fruit, and increased the contents of 11 volatile isoprene compounds, including 6-methyl-5-heptene-2-one, compared with the wild type (WT). The total amount of these isoprene compounds was the highest in strain OE-3 from CI1005, which was 5.68 times of that in WT, and it increased 1.88 times in OE-8 from AC compared with WT, significantly enhancing the floral, fruity, and sweet aroma. The soluble solid content, total sugar content, and sugar/acid ratio in strain OE-3 from CI1005 increased to 6.2%, 37.34 mg/g, and 10.37, while the contents of total acid and vitamin C (VC) decreased to 0.36 mg/L and 42.10 mg/L, respectively. The soluble solid content, total sugar content, and sugar/acid ratio in strain OE-7 from AC increased to 4.77%, 20.03 mg/g, and 5.23, while the total acid and VC contents decreased to 0.38 mg/L and 37.10 mg/L, respectively, resulting in high-sweet and low-sour taste. The *SICCD1A* gene is beneficial for enhancing the content and richness of carotenoid-derived volatiles in tomato fruit and increasing the contents of soluble solids and total sugars, thereby improving the flavor quality.

Keywords: tomato; carotenoid cleavage dioxygenases A; volatiles; flavor quality

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230426-255

中图分类号: S641.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 02-0097-07

收稿日期: 2023-04-26

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项 (2016YFD0101703); 陕西省重点研发计划项目 (2019ZDLNY03-05)

第一作者简介: 娄茜棋 (1996—) (ORCID: 0009-0000-7940-4208), 女, 硕士研究生, 研究方向为番茄品质改良与育种。

E-mail: 568105878@qq.com

*通信作者简介: 梁燕 (1963—) (ORCID: 0000-0001-8833-116X), 女, 教授, 博士, 研究方向为番茄品质和抗逆调控机制与遗传改良。E-mail: liangyan@nwsuaf.edu.cn

引文格式:

姜茜棋, 孟良哲, 张清花, 等. 过表达*SICCDIA*基因调控番茄风味品质[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 97-103. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230426-255. <http://www.spkx.net.cn>

LOU Qianqi, MENG Liangzhe, ZHANG Qinghua, et al. Overexpression of the gene encoding *Solanum lycopersicum* carotenoid cleavage dioxygenase 1A (*SICCDIA*) regulates tomato flavor quality[J]. Food Science, 2024, 45(2): 97-103. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230426-255. <http://www.spkx.net.cn>

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 俗称西红柿、洋柿子等, 起源于南美洲^[1]。因其丰富的营养品质、多汁鲜美的风味品质深受消费者喜爱。然而, 商品番茄育种长期追求高产和高抗定向育种, 导致果实品质性状多样化程度降低^[2], 特别是番茄的气味和滋味已不能够满足消费者需求^[3], 因此, 提升番茄风味品质是当前研究的热点^[4-5]。

在蔬菜中有3种主要的挥发物合成途径, 分别是脂肪酸途径、氨基酸途径和类胡萝卜素途径^[6-7]。已有大量的研究发现合成途径中存在关键有利基因^[8-10], 如在类胡萝卜素途径中的类胡萝卜素双加氧酶 (carotenoid cleavage dioxygenases, CCD1) 裂解类胡萝卜素产生花香、果香等异戊二稀挥发性物质^[11-12]。这些挥发物虽然浓度低, 但易被感知到, 与消费者喜爱程度呈正相关^[11-13]。Simkin^[14]和Ilg^[15]等研究发现番茄*LeCCD1A*与*CCD1*株系有83%同源性, 能在体外裂解多种环状类胡萝卜素, 生成多种C13脱辅基类胡萝卜素类化合物, 如香叶基丙酮、假紫罗兰酮和 β -紫罗兰酮, 显著增加果实风味^[16]。另外, 八氢番茄红素、六氢番茄红素、 α -胡萝卜素均能够被*LeCCD1A*氧化裂解产生香叶基丙酮, 番茄红素也能被氧化裂解产生6-甲基-5-庚烯-2-酮^[17]。Cheng Guoting等^[16]的研究表明*SICCDIA*与类胡萝卜素代谢关系更为密切, *SICCDIA*有望成为番茄香味提升的关键靶基因。

本实验以樱桃番茄CI1005和大果番茄AC的*SICCDIA*-OE株系为研究对象, 利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用 (headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GS-MS) 和高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 等方法, 比较转基因T1代与野生型 (wild type, WT) 株系果实品质间差异, 研究*SICCDIA*对番茄果实风味和营养品质的影响, 以期为*SICCDIA*在番茄品质改良中的应用奠定基础 and 依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

本实验室获得了*SICCDIA*-OE的T0代番茄植株^[16], 在此基础上自交获得CI1005 (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) 和AC番茄材料 (*Solanum lycopersicum* var. *lycopersicum*) 过表达T1代转基因材料。CI1005为风味

较好的红色樱桃番茄, 植株编号为OE-2、OE-3、OE-8和OE-9; AC为风味较差的红色大果番茄植株, 编号为OE-7、OE-15和OE-16, 均由西北农林科技大学园艺学院番茄种质资源课题组提供。

3-壬酮 (分析纯) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 乙腈、无水NaCl、正己烷、丙酮、无水乙醇、乙酸乙酯、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 上海麦克林生化科技有限公司; Omega RNA提取试剂盒 美国Omega BioTek公司; Evo M-MLV反转录预混型试剂盒、SYBR[®] Green Pro Taq HS预混型qPCR试剂盒 湖南艾科瑞生物工程有限公司; VC试剂盒、总糖试剂盒 北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

电子天平、匀浆机、恒温磁力搅拌器 美国Troemner公司; ISQ GS-MS仪 美国Thermo Fisher Scientific公司; SPME手动进样手柄、PDMS (100 μ m) 萃取头 美国Supelco公司; LC-2010A HT HPLC仪 日本岛津公司; 离心机、聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增仪 德国艾本德股份公司; 电泳仪 北京君意公司; 凝胶成像系统 北京赛智公司; 荧光定量仪 美国应用生物系统公司。

1.3 方法

1.3.1 DNA提取及PCR鉴定

待幼苗长至四叶一心时, 取新鲜叶片采用十六烷基三甲基溴化铵法 (hexadecyltrimethyl ammonium bromide, CTAB) 提取DNA。检测浓度, 以提取的DNA为模板, PCR鉴定阳性株系。过表达*SLCCDIA*基因表达载体质粒为阳性对照, WT植株DNA作为阴性对照。

PCR体系 (20 μ L): Taq mix (2 \times) 10 μ L; 正、反向引物各1 μ L; DNA模板1 μ L; ddH₂O补齐至20 μ L, 加7 μ L。

PCR程序: 94 $^{\circ}$ C预变性5 min; 95 $^{\circ}$ C变性30 s, 56 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸40 s (30个循环); 72 $^{\circ}$ C延伸10 min; 4 $^{\circ}$ C保温。

1.3.2 实时PCR (real-time PCR) 鉴定

统一采取第二穗成熟果实, 每个样品设3个技术重复, 提取方法参照Omega试剂盒说明书; 提取的RNA用RNA PCR试剂盒逆转录为cDNA。参照Evo M-MLV逆转录预混型试剂盒说明书; 采用SYBR[®] Green Pro Taq HS预混型qPCR试剂盒进行real-time PCR。反应体系为20 μ L, 其中2 \times SYBR[®] Green Pro Taq HS Premix 10 μ L, cDNA

200 ng, 正、反向引物各0.2 μmol/L, ROX Reference Dye 0.4 μmol/L, 用RNase free water补齐至20 μL。反应条件为95 °C 预变性3 min, 95 °C 变性10 s, 60 °C 复性1 min, 40 个循环。每个样品均设置3 个生物学重复, 再根据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算基因的表达量。具体操作参照试剂盒说明书, 引物序列如表1所示。

表1 real-time PCR引物列表

Table 1 List of primers used for real-time PCR

名称	正向引物 (5'→3')	反向引物 (5'→3')
<i>SICCD1A</i>	AAAGGGCTGTTTGGTCTGTT	TGCTTCCTGCCTGTGTAGTT
<i>Actin</i>	TGTCCTATTACGAGGGTTAIG	AGTTAAATCAGCACCAGCAAGAT

1.3.3 挥发物测定

采用HS-SPME-GC-MS联用技术测定番茄果实挥发物。参照吕洁^[10]、Cheng Guoting^[16]等和常培培^[18]的方法略作改动。

SPME取样: 取成熟期大小均匀的5 个果实, 用匀浆机打成匀浆, 取约5 g番茄果肉匀浆, 并加入3 g无水硫酸钠, 同时加入10 mL 0.025 mg/L的3-壬酮标样于40 mL顶空瓶中, 置于50 °C 恒温磁力搅拌器上(搅拌速率500 r/min), 平衡10 min后于顶空固相微萃取吸附40 min, 插入色谱气化室, 解吸3 min后进行GC-MS分析。

色谱条件: 色谱柱为HP-INNOWAX弹性石英毛细管柱(60 m×0.25 mm, 0.25 mm); 进样口温度250 °C;

进样方式: 不分流进样; 升温程序: 40 °C 保持2.5 min, 10 °C/min升至110 °C, 然后以6 °C/min升温至230 °C, 维持8 min; 载气为高纯He (99.999%); 流速1.0 mL/min。质谱条件: 电离方式: 电子电离; 电离电压70 eV; 离子源温度250 °C; 采用选择离子检测进行检测, 扫描质量范围35~500 u。

定性及半定量: 采用计算机谱库(NIST 2011)进行检索及分析, 参考与质谱的匹配度以及相关文献鉴定果实中的挥发性物质组分(正反匹配度在800~1 000范围内)。果实中挥发性物质的定量采用内标峰面积归一法。

1.3.4 类胡萝卜素含量测定

将果实用液氮研成粉末, 冷冻干燥, 称取1 g样品放入10 mL离心管, 加入5 mL色素提取液(正己烷:丙酮:无水乙醇=2:1:1, V/V), 用超声仪萃取20 min。600 r/min离心10 min, 将上清液转到新离心管; 向原来的离心管中加入5 mL色素提取液, 萃取后再离心, 合并2次离心后的上清液。将上清液真空浓缩至干燥。用2 mL乙酸乙酯溶解类胡萝卜素干样, 1 300 r/min离心25 min, 取上清液经过0.22 μm滤膜过滤2次, 转入2 mL棕色色谱进样瓶。用LC-2010A HT HPLC仪进行检测。用YMC Carotenoid C₃₀色谱柱对类胡萝卜素进行分离, 用番茄红素、β-胡萝卜素、叶黄素标准品确定出峰时间, 并作线性回归校准曲线。

1.3.5 其他品质指标测定

总糖含量采用蒽酮比色法测定^[19]; VC质量浓度采用钼蓝比色法测定^[20]; 可溶性固形物质量分数使用手持式折光仪直接测定^[21]; 总酸质量浓度采用酸碱滴定法测定^[22]。

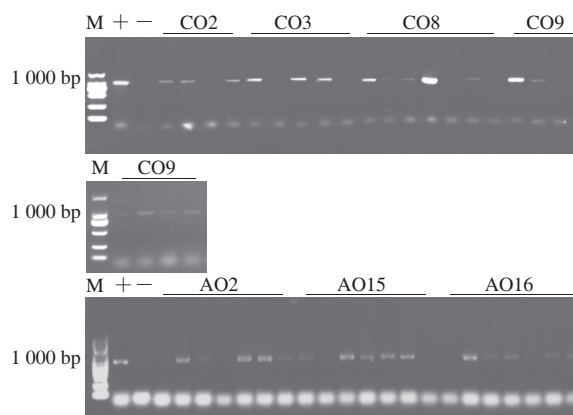
1.4 数据统计与分析

采用Excel 2007及SPSS 20.0软件统计与分析数据并进行显著性分析和标准偏差计算, 采用Origin软件作图。

2 结果与分析

2.1 *SICCD1A*-OE株系的表达水平分析

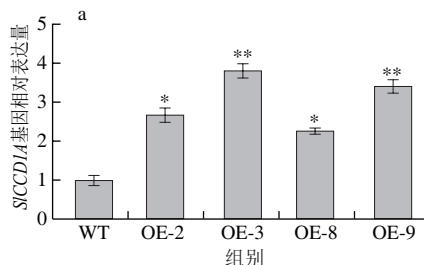
经鉴定阳性植株均扩增出986 bp的目的条带(图1), CI1005的T1代阳性株共有17株, AC的T1代阳性株共有15株。选取CI1005的OE-2、OE-3、OE-8和OE-9株系和AC的OE-7、OE-15和OE-16株系进行表达量测定。real-time PCR分析结果如图2所示, 与WT相比, *SICCD1A*基因相对表达量在OE-3和OE-9株系中极显著升高($P<0.01$), 分别是3.82和3.41。*SICCD1A*基因相对表达量在OE-2和OE-8株系中显著升高($P<0.05$), 分别是2.92和2.27。*SICCD1A*基因相对表达量在OE-7和OE-15株系中极显著升高($P<0.01$), 分别是2.74和2.09。在OE-16株系中显著升高为1.68($P<0.05$)。选取表达量增长幅度更大的CI1005的OE-2、OE-3和OE-9, AC的OE-7和OE-15株系进行后续的品质测定和分析。

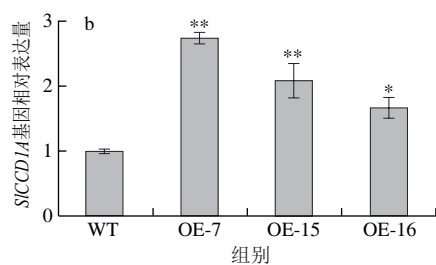


M. DNA Marker DL2000 plus; +.阳性对照; -.阴性对照。CI1005果实标注为CO株系; AC果实标注为AO株系。

图1 OE植株PCR鉴定结果

Fig. 1 PCR identification of OE plants





a. CI1005; b. AC. 与WT相比, *.差异显著 ($P < 0.05$); **.差异极显著 ($P < 0.01$); 下同。

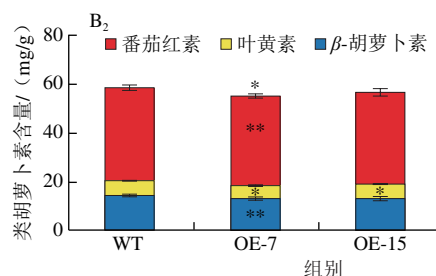
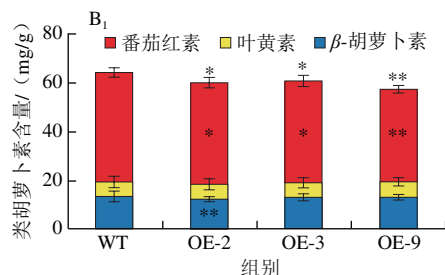
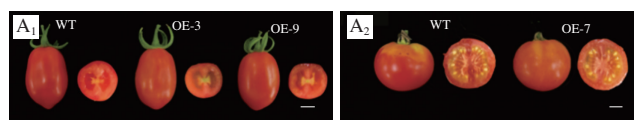
图2 CI1005及AC果实SICCD1A相对表达量

Fig. 2 Relative expression levels of *SICCD1A* in CI1005 and AC fruits

2.2 *SICCD1A*-OE对色差和类胡萝卜素的影响

2.2.1 CI1005番茄

如图3A所示, OE-3和OE-9株系与WT相比果实颜色变浅。进一步进行色差分析(表2), 发现OE-3和OE-9的 a^* 值、 C^* 值显著低于WT, 证明OE-3和OE-9变绿、色彩饱和度变低。但OE-2与WT无显著差异。色差分析中 L^* 值表示果色的明度, 值越高越接近亮色, 反之则越近暗色。 a^* 值表示红度, 值越高越接近红色, 值越低越接近绿色。 b^* 值表示黄度, 值越高越接近黄色, 值越低越接近蓝色。 C^* 值为色彩饱和度, 与番茄红素含量呈正相关^[15]。结合2.1节结果发现, *SICCD1A*表达量越高果实颜色越浅, 表达量适当提升对果实颜色没有显著影响。据此利用HPLC法检测果实类胡萝卜素含量, 主要鉴定的类胡萝卜素种类是番茄红素、叶黄素和 β -胡萝卜素, 其中总类胡萝卜素是三者之和。过表达*SICCD1A*基因使得果实类胡萝卜素含量降低, 如图3B所示。与WT相比, OE-9总类胡萝卜素含量、番茄红素含量极显著降低 ($P < 0.01$), 分别为57.55 mg/g和38.88 mg/g; OE-2、OE-3也显著低于WT ($P < 0.05$), 分别是60.33、41.83 mg/g和60.36、40.73 mg/g, 仅OE-2的 β -胡萝卜素含量极显著降低为12.73 mg/g ($P < 0.01$)。另外, *SICCD1A*基因对各株系叶黄素含量未体现出显著影响, 可能是因为番茄红素含量总量远高于叶黄素含量, 相对裂解的量较多。



A.果实外观; B.类胡萝卜素含量。下标1. CI1005果实; 下标2. AC果实。

图3 *SICCD1A*-OE对CI1005和AC果实类胡萝卜素含量的影响

Fig. 3 Effect of *SICCD1A*-OE on carotenoid contents in CI1005 and AC fruits

表2 *SICCD1A*-OE对CI1005果实色差的影响

Table 2 Effect of *SICCD1A*-OE on color difference of CI1005 fruit

株系	L^*	a^*	b^*	C^*
WT	35.68±0.15	26.71±0.11	16.68±0.08	31.49±0.07
OE-2	35.15±1.04	25.83±0.39	15.94±0.38	30.35±0.42
OE-3	35.19±0.68	20.02±0.4*	16.39±0.50	25.87±0.62*
OE-9	34.81±0.87	20.7±1.29*	16.27±0.51	26.33±1.26*

2.2.2 AC番茄

如表3所示, OE-7株系 L^* 值与 C^* 值极显著低于WT ($P < 0.01$), 分别是32.51和21.79; a^* 值和 b^* 值显著低于WT ($P < 0.05$), 分别是16.37和14.39。OE-15的 C^* 值极显著低于WT ($P < 0.01$), 为21.12, L^* 、 a^* 、 b^* 值显著低于WT ($P < 0.05$), 分别是33.17、16.68和14.49, 表明过表达株系果实颜色变浅, 但在实际样品观察中发现仅OE-7颜色变浅, OE-15并无显著变化。相较于WT, OE-7株系总类胡萝卜素含量显著低于WT ($P < 0.05$), 为55.66 mg/g; OE-7的番茄红素极显著降低为36.79 mg/g ($P < 0.01$); OE-15为38.61 mg/g, 无显著变化 ($P > 0.05$); OE-7的 β -胡萝卜素含量极显著降低为13.08 mg/g ($P < 0.01$); OE-7和OE-15的叶黄素含量显著降低 ($P < 0.05$), 分别为5.76 mg/g和5.82 mg/g。

表3 *SICCD1A*-OE对CI1005果实色差的影响

Table 3 Effect of *SICCD1A*-OE on color difference of CI1005 fruit

株系	L^*	a^*	b^*	C^*
WT	35.66±0.30	18.26±0.91	16.79±0.74	25.38±0.14
OE-7	32.51±0.45**	16.37±0.16*	14.39±0.22*	21.79±0.21**
OE-15	33.17±0.26*	16.68±0.22*	14.49±0.04*	21.12±0.97**

2.3 *SICCD1A*-OE对类胡萝卜素衍生挥发物的影响

2.3.1 CI1005番茄

在CI1005过表达及WT株系中共检测到11种类胡萝卜素衍生挥发物(表4), 过表达株系总挥发物含量极显著高于WT ($P < 0.01$), 分别是WT的4.31、5.68倍和5.02倍。其中OE-3和OE-9株系中的6-甲基-5-庚烯-2-酮、香叶醇、橙花醛、法尼基丙酮、 β -环柠檬醛、(E)-柠檬醛

含量均极显著高于WT ($P < 0.01$)；OE-3的 β -紫罗酮、(E)- α -紫罗酮、6-甲基-5-庚烯-2-醇和3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇含量极显著高于WT ($P < 0.01$)；OE-2的6-甲基-5-庚烯-2-酮、6-甲基-5-庚烯-2-醇、香叶醇、橙花醛、 β -紫罗酮、(E)- α -紫罗酮、法尼基丙酮、3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇、 β -环柠檬醛、香叶基丙酮和(E)-柠檬醛含量均显著高于WT ($P < 0.05$)。

CI1005及WT株系的气味特征得分如图4所示。提高SICCDIA表达量主要对CI1005的花香、甜感和果香起重要作用。相较于WT，OE-2、OE-3和OE-9的花香和甜感、果香气味特征值显著增加 ($P < 0.05$)，OE-2分别为17.28、5.72、6.55分，OE-3分别为22.03、7.35、8.82分，OE-9分别为19.62、7.13、8.25分。总之，CI1005过表达株系果实中挥发物含量显著高于WT果实，特征气味得分值显著提高，风味更加浓郁。

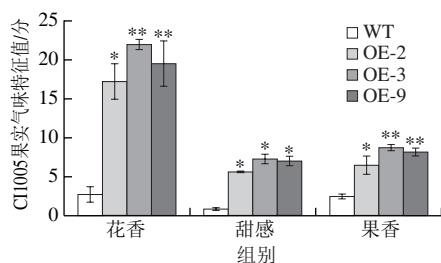


图4 SICCDIA-OE对CI1005气味得分的影响

Fig. 4 Effect of SICCDIA-OE on aroma scores of CI1005 fruit

2.3.2 AC番茄

在AC过表达及WT株系中共检测到9种类胡萝卜素衍生挥发物(表5)，过表达株系总挥发物含量极显著高于WT ($P < 0.01$)，OE-7和OE-15分别是WT的1.88倍和1.73倍。其中OE-7株系橙花醛、3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇、 β -环柠檬醛含量显著高于WT ($P < 0.05$)，6-甲基-5-

庚烯-2-酮、6-甲基-5-庚烯-2-醇、 β -紫罗酮、(E)- α -紫罗酮、(E)-柠檬醛含量极显著高于WT ($P < 0.01$)；OE-15的6-甲基-5-庚烯-2-酮、6-甲基-5-庚烯-2-醇、橙花醛、 β -紫罗酮、香叶基丙酮含量显著高于WT ($P < 0.05$)，(E)- α -紫罗酮、 β -环柠檬醛、(E)-柠檬醛含量极显著高于WT ($P < 0.01$)，3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇含量与WT无显著差异 ($P > 0.05$)。总之，提高SICCDIA基因能够提升AC果实类胡萝卜素衍生挥发物含量。

气味特征得分如图5所示。相较于WT，OE-7、OE-15的花香、甜感、果香显著增加，OE-7分别为10.74、7.49、8.40分，OE-15分别为10.42、5.85、7.64分。总体来说，SICCDIA-OE番茄果实中的衍生挥发物含量极显著提升，且特征气味得分值显著提高，风味更佳。

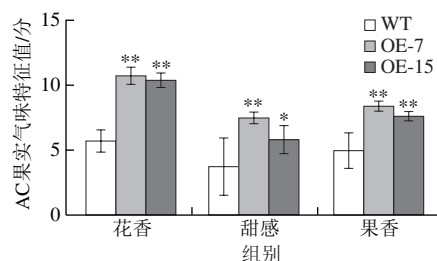


图5 SICCDIA-OE对AC果实气味得分的影响

Fig. 5 Effect of SICCDIA-OE on aroma scores of AC fruit

2.4 果实品质指标

2.4.1 CI1005番茄

如表6所示，OE-3和OE-9的可溶性固形物质量分数极显著高于WT ($P < 0.01$)，分别是6.2%和6.1%；WT仅4.47%。OE-3和OE-9的总糖含量显著高于WT ($P < 0.05$)，分别是37.34 mg/g和35.77 mg/g；而总酸质量浓度极显著低于WT ($P < 0.01$)，分

表4 SICCDIA-OE对CI1005果实类胡萝卜素衍生挥发物含量的影响

Table 4 Effect of SICCDIA-OE on the contents of carotenoid-derived volatiles in CI1005 fruit

株系	6-甲基-5-庚烯-2-酮	6-甲基-5-庚烯-2-醇	香叶醇	橙花醛	β -紫罗酮	(E)- α -紫罗酮	法尼基丙酮	3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇	β -环柠檬醛	香叶基丙酮	(E)-柠檬醛	总挥发物含量
WT	46.23	6.00	1.43	2.94	4.63	21.38	1.38	1.24	4.44	25.16	5.79	120.62
OE-2	172.52*	30.77*	8.18*	55.32*	24.56*	26.83*	7.40*	15.09*	19.75*	96.35*	63.91*	520.68**
OE-3	202.15**	37.57**	25.17**	83.16**	28.27**	39.90**	25.34**	27.34**	28.73**	111.76*	75.25**	684.64**
OE-9	185.46**	25.56*	16.85**	85.38**	22.15*	29.49*	13.95**	13.27*	34.27**	107.8*	71.29**	605.47**

注：*与WT组相比差异显著 ($P < 0.05$)；**与WT组相比差异极显著 ($P < 0.01$)；下同。

表5 SICCDIA-OE对AC果实类胡萝卜素衍生挥发物含量的影响

Table 5 Effect of SICCDIA-OE on the contents of carotenoid-derived volatiles in AC fruit

株系	6-甲基-5-庚烯-2-酮	6-甲基-5-庚烯-2-醇	橙花醛	β -紫罗酮	(E)- α -紫罗酮	3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇	β -环柠檬醛	香叶基丙酮	(E)-柠檬醛	总挥发物含量
WT	187.65	31.98	8.58	16.27	19.71	16.98	17.40	40.57	12.40	351.54
OE-7	288.40**	80.69**	26.10*	25.82**	28.87**	32.58*	30.90*	102.50*	45.88**	661.74**
OE-15	241.09*	39.77*	17.13*	40.21*	30.42**	19.36	31.46**	94.52*	95.21**	609.17**

表6 *SICCDIA*-OE对相关品质指标的影响
Table 6 Effect of *SICCDIA*-OE on quality indexes

品质指标	CI1005				AC		
	WT	OE-2	OE-3	OE-9	WT	OE-7	OE-15
可溶性固形物质量分数/%	4.47±0.21	4.87±0.29	6.20±0.10**	6.10±0.20**	4.40±0.10	4.77±0.29*	4.97±0.12*
总糖含量/(mg/g)	33.67±1.03	33.33±1.32	37.34±3.39*	35.77±0.77*	16.68±1.12	20.03±0.40*	18.70±0.21
总酸质量浓度/(mg/L)	0.66±0.14	0.57±0.05*	0.36±0.08**	0.37±0.11**	0.75±0.13	0.38±0.12**	0.41±0.02**
VC质量浓度/(mg/L)	52.11±0.28	44.75±0.65*	42.10±0.20*	42.68±1.29*	44.37±2.58	37.10±1.31*	41.23±2.25
糖酸比	5.09±0.33	7.20±0.30	10.37±0.58**	9.67±0.32**	2.24±0.23	5.23±0.20**	4.60±0.19**

别是0.36 mg/L和0.37 mg/L；糖酸比极显著高于WT ($P<0.01$)，分别是10.37和9.67。OE-2株系的可溶性固形物质量分数、总糖含量并无显著差异 ($P>0.05$)，但是糖酸比增长的趋势同其他过表达株系基本一致。过表达株系的VC质量浓度较WT均有所下降，分别是44.75、42.10 mg/mL和42.68 mg/mL。提高*SICCDIA*表达量可提高CI1005果实的可溶性固形物质量分数、总糖含量和糖酸比。

2.4.2 AC番茄

AC过表达株系的可溶性固形物质量分数显著提高。相较于WT，表达量最高的OE-7株系可溶性固形物质量分数显著提升至4.77% ($P<0.05$)，总糖含量显著提高至20.03 mg/g ($P<0.05$)，糖酸比极显著提高至5.32 ($P<0.01$)，分别为20.03 mg/g和5.23；总酸质量浓度极显著降低 ($P<0.01$)、VC质量浓度显著降低 ($P<0.05$)，分别是0.38 mg/L和37.10 mg/mL。OE-15的糖酸比极显著提高为4.60 ($P<0.01$)，总酸质量浓度极显著降低为0.41 mg/L ($P<0.01$)。总糖含量和VC质量浓度没有显著差异 ($P>0.05$)。提高*SICCDIA*表达水平显著提高AC果实的可溶性固形物质量分数、总糖含量和糖酸比，显著降低果实总酸和VC质量浓度。

3 讨论

类胡萝卜素属于异戊二烯类次生代谢产物^[23]，是提供果实颜色的主要来源^[24]。Simkin^[14]和Ilg^[15]等研究表明，*SICCDIA*能够裂解类胡萝卜素产生挥发物，但并不会影响类胡萝卜素总量变化^[19,25-26]。而程国亭^[25]的研究表明，在红色樱桃番茄和绿色大果番茄中提高*SICCDIA*基因表达量，使果实番茄红素和 β -胡萝卜素极显著降低 ($P<0.01$)，叶黄素含量没有被影响，在本实验中也发现类似结果(图6)，提高*SICCDIA*基因表达量，会大量裂解果实的番茄红素和 β -胡萝卜素，叶黄素含量没有显著差异 ($P>0.05$)。所以使得总类胡萝卜素含量较WT显著降低 ($P<0.05$)，果实颜色变浅。因此推测*SICCDIA*基因表达量提高至一定程度，大量类胡萝卜素被裂解，引起果实颜色发生变化。

针对*SICCDIA*-OE株系中果实叶黄素含量没有显著变化的现象 ($P>0.05$)，推测可能有两点原因：一是在

番茄中已经证明CCD1具有强烈地降解玉米黄质、番茄红素和 β -紫罗酮的功能^[26-27]，并且番茄果实中番茄红素含量极显著高于叶黄素 ($P<0.01$)，能被*SICCDIA*裂解的量相对较多；二是*SICCDIA*在番茄体内的裂解底物具有灵活性^[26-28]，其裂解活性及其底物选择可能易受品种的影响^[28]。

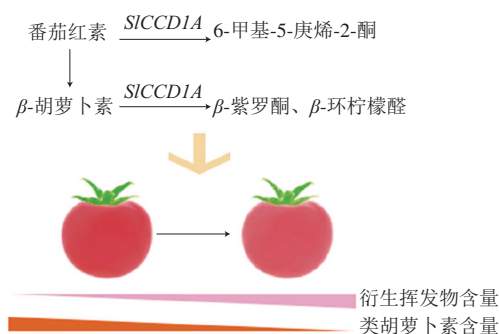


图6 *SICCDIA*在番茄果实作用机制模型

Fig. 6 Model of the mechanism of *SICCDIA* action in tomato fruits

前人研究表明，类胡萝卜素衍生挥发物对番茄风味有重要贡献^[29-31]，包括具有花香和甜感的6-甲基-5-庚烯-2-酮、 β -紫罗酮和香叶基丙酮等挥发性物质^[32-35]。在本实验中证明*SICCDIA*-OE使类胡萝卜素衍生挥发物组分数和含量增加(图6)，CI1005的OE株系中11种挥发物含量显著增加 ($P<0.05$)，其中9种关键挥发物对应着番茄的花香、甜感和果香^[33-34]，且表达量越高的株系挥发物含量及气味特征值提升越多。AC番茄属于大果番茄，经评价AC番茄风味较差居中等偏下水平。AC的WT番茄果实中萜类挥发物含量较低，只含有少量的单萜类物质。提高*SICCDIA*表达水平也能显著增加AC类胡萝卜素衍生挥发物含量和气味特征得分。许多类胡萝卜素衍生挥发物由于气味阈值低，只需少量就能影响番茄风味^[3,34]。所以提高*SICCDIA*表达量是提高番茄香气强度的有效途径^[36]，提升CI1005和AC果实类胡萝卜素衍生挥发物的含量与丰富度，能够增加消费者对番茄的花香、果香和甜感的感知，提升番茄果实风味品质。

在水果和蔬菜营养及风味品质的评价范畴中，总糖含量、可溶性固形物含量、VC含量也占据重要地位^[37]，这些性状的不同比例不仅决定了它们口感，还能够和挥发物质混合产生独特风味^[38-39]。因此，为了验证提高*SICCDIA*基因除了提升果实体内挥发物外，是否还会引

起其他性状的变化, 本实验测定了可溶性固形物质量分数和总糖含量等品质指标。过表达株系的可溶性固形物质量分数、总糖含量各糖酸比显著提高 ($P < 0.05$), 总酸和VC质量浓度显著降低 ($P < 0.05$)。使得转基因番茄口感上变得高甜低酸, 更满足消费者对于番茄果实滋味的预期。果实的各个品质指标在一定程度上可能存在关联, 但是各个性状间关系联结的具体原因还需深入研究^[10,40]。因此, 利用*SICCDIA*基因改良番茄果实品质, 仍需寻找风味品质与营养品质的平衡点, 利用分子手段结合杂优育种等方法, 在生产中利用*SICCDIA*创制优质番茄种质材料。

参考文献:

- [1] 李丽梅, 杨超沙, 张立永, 等. 优质番茄种质资源品质分析及综合评价[J]. 华北农学报, 2020, 35(增刊1): 8. DOI:10.7668/hbxb.20191437.
- [2] 娄茜棋, 梁燕. 五类不同果色番茄种质资源品质分析[J]. 浙江农业学报, 2023, 35(3): 582-589. DOI:10.3969/j.issn.1004-1524.2023.03.11.
- [3] TIEMAN D M, ZHU G T, RESENDE R, et al. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor[J]. Science, 2017, 355(6323): 391. DOI:10.1126/science.aal1556.
- [4] 卢琦, 梁燕. 不同类型番茄品质性状遗传多样性及其相关性分析[J]. 东北农业大学学报, 2020(7): 27-35. DOI:10.3969/j.issn.1005-9369.2020.07.004.
- [5] GAO L, ITAY G, SUN H H, et al. The tomato pan-genome uncovers new genes and a rare allele regulating fruit flavor[J]. Nature Genetics, 2019, 51(6): 1044-1051. DOI:10.1038/s41588-019-0410-2.
- [6] BALDWIN E A, SCOTT J W, SHEWMAKER C K, et al. Flavor trivia and tomato aroma: biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components[J]. HortScience, 2000, 35(6): 1013-1022. DOI:10.21273/HORTSCI.35.6.1013.
- [7] 王同林, 叶红霞, 郑积荣, 等. 番茄果实中主要风味物质研究进展[J]. 浙江农业学报, 2020, 32(8): 10. DOI:10.3969/j.issn.1004-1524.2020.08.22.
- [8] 卢娟芳. 杏果实两个类胡萝卜素裂解双加氧酶基因及其启动子的克隆与功能分析[D]. 重庆: 西南大学, 2018: 2-8. DOI:CNKI:CDMD.2.1018.860274.
- [9] KLEE H J, TIEMAN D M. The genetics of fruit flavour preferences[J]. Nature Reviews Genetics, 2018, 19: 347-356. DOI:10.1038/s41576-018-0002-5.
- [10] 吕洁, 梁燕, 赵菁菁, 等. 干扰*LYC-B*基因调控番茄果实挥发性物质及主要品质性状[J]. 食品科学, 2016, 37(21): 195-201. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201621033.
- [11] ZHANG J, ZHAO J T, XU Y, et al. Genome-wide association mapping for tomato volatiles positively contributing to tomato flavor[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 1042. DOI:10.3389/fpls.2015.01042.
- [12] CHENG G T, CHANG P P, SHEN Y B, et al. Comparing the flavor characteristics of 71 tomato (*Solanum lycopersicum*) accessions in central Shaanxi[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 586834. DOI:10.3389/fpls.2020.586834.
- [13] VOGEL J T, TIEMAN D M, SIMS C A, et al. Carotenoid content impacts flavor acceptability in tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(13): 2233-2240. DOI:10.1002/jsfa.4076.
- [14] SIMKIN A J, SCHWARTZ S H, AULDRIDGE M, et al. The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone[J]. The Plant Journal, 2004, 40: 882-892. DOI:10.1111/j.1365-313X.2004.02263.x.
- [15] ILG A, BEYER P, AL-BABILI S. Characterization of the rice carotenoid cleavage dioxygenase 1 reveals a novel route for geranyl biosynthesis[J]. FEBS Journal, 2009, 276(3): 736-747. DOI:10.1111/j.1742-4658.2008.06820.x.
- [16] CHENG G T, LI Y S, QI S M, et al. *SICCDIA* enhances the aroma quality of tomato fruits by promoting the synthesis of carotenoid-derived volatiles[J]. Foods, 2021, 10(11): 2678. DOI:10.3390/foods10112678.
- [17] WANG L B, BALDWIN E A, PLOTTO A, et al. Effect of methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment on the volatile profile in tomato fruits subjected to chilling temperature[J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 108: 28-38. DOI:10.1016/j.postharvbio.2015.05.005.
- [18] 常培培. 番茄果实芳香物质和品质性状的鉴定与分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015: 9-43.
- [19] 李合生, 陈翠莲, 洪玉枝, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 121-133.
- [20] 黄白光. 专用肥配施纳米蚯蚓粪生物有机肥对苹果、番茄产量与品质的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021: 16-17. DOI:10.27409/d.cnki.gxbnu.2021.000662.
- [21] 张宪政, 陈凤玉, 王荣富. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1994: 144-151.
- [22] 郝建军, 刘延吉. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2001: 144-151.
- [23] YUAN Y, REN S Y, LIU X F, et al. *SIWRKY35* positively regulates carotenoid biosynthesis by activating the MEP pathway in tomato fruit[J]. New Phytologist, 2022, 234(1): 164-178. DOI:10.1111/nph.17977.
- [24] 于菁文, 张奕, 胡鑫, 等. 番茄果实中类胡萝卜素合成与调控的研究进展[J]. 中国蔬菜, 2019(7): 23-35.
- [25] 程国亭. 番茄果实风味构成与*SICCDIA*作用解析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021: 113-127.
- [26] 张印, 万勇, 张婷, 等. 柑橘愈伤组织RNAi沉默*CCD1*基因对其类胡萝卜素积累的影响[J]. 园艺学报, 2020, 47(10): 1982-1990. DOI:10.16420/j.issn.0513-353x.2019-1007.
- [27] 徐记迪. 柑橘全基因组DNA甲基化分析及调控作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015: 36-58. DOI:10.7666/d.Y3052472.
- [28] 张梦云, 高爱平, 赵志常, 等. 芒果类胡萝卜素裂解双加氧酶1(*CCD1*)基因的克隆与序列分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(7): 2124-2130. DOI:10.13271/j.mpb.016.002124.
- [29] MARTINA M, TIKUNOV Y, PORTIS E, et al. The genetic basis of tomato aroma[J]. Genes, 2021, 12(2): 226. DOI:10.3390/genes12020226.
- [30] GAO Y, LIN Y J, XU M, et al. The role and interaction between transcription factor NAC-NOR and DNA demethylase SIDML2 in the biosynthesis of tomato fruit flavor volatiles[J]. New Phytologist, 2022, 235: 1913-1926. DOI:10.1111/nph.18301.
- [31] ZHANG B, TIEMAN D M, CHEN J, et al. Chilling-induced tomato flavor loss is associated with altered volatile synthesis and transient changes in DNA methylation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016, 113(44): 12580-12585. DOI:10.1073/pnas.1613910113.
- [32] 张祯, 崔媛媛, 陈春霞, 等. 霞多丽葡萄果实降异戊二烯香气物质积累及代谢酶活变化分析[J]. 浙江农业学报, 2023, 35(4): 931-941. DOI:10.3969/j.issn.1004-1524.2023.04.20.
- [33] 娄茜棋. 番茄*SICCDIA*基因在果实品质改良中的作用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2023: 28-31.
- [34] MELE M A, KANG H M, LEE Y T, et al. Grape terpenoids: flavor importance, genetic regulation, and future potential[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(9): 1429-1447. DOI: 10.1080/10408398.2020.1760203.
- [35] ILAHY R, TLILI I, SIDDIQUI M W, et al. Inside and beyond color: comparative overview of functional quality of tomato and watermelon fruits[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 769. DOI:10.3389/fpls.2019.00769.
- [36] 郭精桐, 赵圆, 孙玉敬. 番茄果实风味及其影响因素的研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(17): 169-187. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220826-323.
- [37] WU B P, CAO X M, LIU H R, et al. UDP-glucosyltransferase *PpUGT85A2* controls volatile glycosylation in peach[J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70(3): 925-936. DOI:10.1093/jxb/ery419.
- [38] YOU Y, VAN KAN J A L. Bitter and sweet make tomato hard to (b)eat[J]. New Phytologist, 2021, 230(1): 90-100. DOI:10.1111/nph.17104.
- [39] 田怀香, 郑国茂, 于海燕, 等. 气味与滋味间相互作用对食品风味感知影响研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(9): 259-269. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220515-194.
- [40] 常培培, 梁燕, 张静, 等. 5种不同果色樱桃番茄品种果实挥发性物质及品质特性分析[J]. 食品科学, 2014, 35(22): 215-221. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201422042.