

越橘果实多胺合成代谢通路成分及其变化研究

张长青¹, 李广平², 王倩¹, 李海玲¹, 赵辉¹

(1. 金陵科技学院园艺园林学院, 江苏 南京 210038; 2. 南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037)

摘要:为研究越橘果实多胺合成代谢通路的成分及其变化,以成熟果和幼果为试材,将全基因组尺度上的代谢组、转录组、降解组数据与生物信息学分析相结合,识别到多胺合成代谢相关化合物9种、基因12条、miRNA 2条。以幼果为对照,分析它们在成熟果中的积累量变化,结果表明:除S-腺苷蛋氨酸和降精胺外,其他相关化合物的积累量均低于幼果;除S-腺苷蛋氨酸脱羧酶基因、亚精胺合成酶基因和二胺氧化酶基因外,其他基因均不显著高表达。miRNA切点验证结果表明,S-腺苷蛋氨酸脱羧酶基因和精氨酸脱羧酶基因能分别被 vas-miR-43 和 vas-miR-166a 剪切。此研究为人们进一步认识和利用越橘果实的多胺提供了一定的分子基础。

关键词:多胺;生物合成;越橘;代谢组;转录组;miRNA

中图分类号:S663.9

文献标识码:A

文章编号:1672-755X(2021)01-0067-07

Study on the Changes and Components of Polyamine Biosynthesis Metabolic Pathway in Blueberry Fruit

ZHANG Chang-qing¹, LI Guang-ping², WANG Qian¹, LI Hai-ling¹, ZHAO Hui¹

(1. Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China; 2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: In order to study the changes and components of the polyamine biosynthesis metabolic pathway of blueberry fruit, mature fruit and young fruit are used as test materials, and the metabolomics, transcriptomics, degradation data on the whole genome scale and bioinformatics analysis are combined to identify 9 compounds related to polyamine biosynthesis, 12 genes, and 2 miRNAs. Compared with young fruit, the accumulation of compounds in mature fruits is descended, except for S-adenosylmethionine and spermine. The gene expressions is not up-regulated significantly except for S-adenosylmethionine decarboxylase gene, spermidine synthetase gene and diamine oxidase gene. The results of miRNA cut point verification show that S-adenosylmethionine decarboxylase gene and arginine decarboxylase gene can be cleaved by vas-miR-43 and vas-miR-166a, respectively. The study provides a molecular basis for the understanding and utilization of polyamines in blueberry fruits.

Key words: polyamine; biosynthesis; blueberry; metabolomics; transcriptomics; miRNA

多胺是一类小分子脂肪胺化合物,参与了植物的逆境应答、果实坐果与早期发育等过程^[1-2],是植物生长、形态建成、延迟衰老和适应环境的重要调控因子^[3]。越橘(蓝莓)是一种重要的经济类果树植物,其果实富含对人体健康有益的花青素^[4],越橘的果实还可做成果汁、干果和糕点馅料等。但越橘根系浅,环

收稿日期:2020-12-30

基金项目:江苏省现代农业产业技术体系建设专项项目(JATS(2019)019,JATS(2020)018)

作者简介:张长青(1974—),男,山西运城人,教授,博士,主要从事园艺分子生物学和生物信息学研究。

境适应性差,抗逆性弱,果实容易失水和腐烂,这些因素均限制了越橘的栽培、加工与利用^[5]。外源多胺的施用能显著改善越橘果实的品质和耐贮特性^[6-7],并增强植物对干旱的适应性^[8]。因此,解析越橘多胺合成代谢通路成分及其变化,将为多胺在越橘上的科学应用,提供分子基础。

腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)和精胺(spermine, Spm)是植物体内广泛存在的多胺类物质^[9]。果实发育早期多胺含量通常较高,并随着果实成熟其含量逐渐降低,陈志远等检测了果实内 Spd 的变化,结果发现它在果实生长过程呈逐渐降低的趋势^[10]。但对番茄中 Put 的研究表明,Put 含量在果实生长过程中逐渐升高,在成熟期达到最大值^[11]。

多胺的生物合成是从鸟氨酸或精氨酸脱羧合成 Put 开始的^[12]。鸟氨酸合成 Put 是由鸟氨酸脱羧酶催化完成;而精氨酸合成 Put 则需要精氨酸脱羧酶、胍丁胺亚氨基水解酶、氨甲酰腐胺酰胺酶依次催化完成。Put 合成之后,脱羧腺苷蛋氨酸(dcSAM)中的氨丙基被 Spd 合成酶转移给 Put,从而合成 Spd,而 dcSAM 的合成则是由 S-腺苷蛋氨酸脱羧酶催化 S-腺苷蛋氨酸(SAM)脱羧完成的。最后,Spd 通过 Spm 合成酶和热精胺(tSpm)合成酶分别催化合成 Spm 和 tSpm。

多胺的分解过程主要由多胺氧化酶和二胺氧化酶介导。多胺氧化酶首先催化 Spm 合成 Spd,然后再合成 Put,Put 氧化酶最后催化 Put 生成 4-氨基丁醛。Dhanaraj 等发现,冷处理条件下越橘花芽中 SAM 脱羧酶的基因表达上调^[13];Inostroza 等发现,Al³⁺胁迫下越橘的一个 SAM 脱羧酶同源基因也是高表达的^[14]。

然而,关于越橘多胺生物合成代谢的其他基因表达情况却报道很少。本文以越橘幼果和成熟果为对象,将越橘全基因组尺度上的代谢组、转录组、降解组数据与生物信息学分析相结合,系统解析了越橘多胺合成代谢通路的分子成分及其动态变化,构建了一张越橘多胺生物合成代谢网络图谱,从而为人们进一步认识和利用越橘多胺提供了一定的分子基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以金陵科技学院园艺园林学院实验站种植的兔眼越橘(*Vaccinium ashei*)品种“粉蓝”为试验材料,分别在果实膨大期(直径为 5 mm)和成熟期(果实完全变蓝)随机采集大小相似的果实样本。每个样品均等分成三份,每份 100 g,用干冰储藏。

1.2 代谢物提取

用有机试剂沉淀蛋白法对样本代谢物进行提取。具体操作步骤为:1)取保存在-80℃条件下的植物样品,放置在-20℃环境下静置 30 min,然后在 4℃环境下进行解冻;2)待解冻结束后,向每个样品管中添加冷冻后的 800 μL 甲醇:水(1:1)混和溶液及 2 个小钢球,把样品管放置在 TissueLyser 研磨机中进行研磨,研磨结束后,取出钢球,并将试管放置在-20℃条件下沉淀 2 h;3)将静置后的试管放置在 4℃、30 000×g 条件下离心 15 min,待离心完成后,从每个样品中取出 650 μL 溶液放入到新样品管中;4)将新样品管再放在 4℃、25 000×g 条件下离心 15 min,离心结束后,从每个样品中取出 550 μL 溶液放入到另外一支新样品管中,并静置保存;5)从每个样品中取 30 μL 溶液进行混合,制成质量控制(QC)样品,交由上机组进行质谱数据采集。

1.3 代谢物分析

按照说明,使用液相色谱-质谱系统(Waters, UK)分析所有试验样品(含质量控制样品),用质量控制样品对仪器稳定性进行监测,采用超高效液相色谱系统(2777C UPLC system, Waters)进行色谱分离,其中柱温为 50℃,流速为 0.4 mL·min⁻¹,流动相 A 为水和 0.1%甲酸,流动相 B 为乙腈和 0.1%甲酸,每个样品的注射体积为 10 μL。洗脱代谢物的时间梯度分别为:0~2 min,100%流动相 A;2~11 min,0~100%流动相 B;11~13 min,100%流动相 B;13~15 min,0~100%流动相 A。

用高分辨率串联质谱仪(Xevo G2-XS QTOF, Waters)对色谱柱中的小分子代谢物进行正、负离子检测。对于正离子检测模式,毛细管电压和取样锥电压分别设置为 3.0 kV 和 40.0 V;对于负离子检测模

式,毛细管电压和取样锥电压分别设置为 2.0 kV 和 40.0 V。采用质心均方误差模式进行质心数据采集,一级扫描范围为 50~1 200 Da,扫描时间为 0.2 s。用 20~40 eV 的电压对母离子进行碎片化,扫描时间为 0.2 s。在数据采集过程中,每隔 3 s 对亮氨酸脑啡肽信号进行一次实时质量校正,同时,每隔 10 个样品进行一次质量控制样品采集,采集结果用来评估样品数据采集过程中仪器状态的稳定性。

采集到的原始质谱数据,使用 Progenesis QI 软件(Version 2.2, Waters, UK)和 MetaX 程序包进行信息分析,过程包括原始数据预处理、峰值提取、原始数据校正以及差异代谢物的鉴定和注释。其中代谢物的鉴定基于 KEGG 数据库,并根据标准化峰面积进行双尾 t 检验,如果代谢物的变化倍数 ≥ 1.2 或 $\leq 0.833\ 318$,则认为它们在果实组之间存在积累差异。

1.4 转录组和降解组数据分析

转录组数据和降解组数据主要来自 Li G 等课题组先前公开的相应数据^[15],它们储存在中国国家基因库(<https://db.cngb.org/>)中,登录号分别为 CNP0000007 和 CNP0000009。

转录组数据分析的步骤为:1)首先下载原始数据,经过滤接头序列及处理低质量数据后,用 Trinity 程序对清洁数据进行拼接,组装成基因序列;2)用软件 Tgicl 进行聚类去冗余;3)基于 KEGG 蛋白数据库对基因序列进行 BLAST 查询注释。

基因表达水平差异的鉴定是在错误发现率(FDR) ≤ 0.001 的基础上进行的,如果 $\log_2$ 变化倍数 > 1.0 或 < -1.0 ,则认为该基因在果实间存在差异表达。

miRNAs 靶基因鉴定是通过将降解组序列锚定在单基因序列上,然后使用 Cleaveland 软件的标准参数进行分析的。本试验中的越橘 miRNA 序列来自 Li G 等的研究文献^[15]。

2 结果与分析

2.1 多胺合成代谢相关化合物的积累水平变化

基于非靶向液相色谱-质谱技术,分析多胺及其相关代谢物在越橘果实中的存在情况发现,Spd 在成熟果中的含量显著下降,为幼果的 0.31 倍;Spm 和 tSpm 在成熟果中的含量也显著下降,为幼果的 0.41 倍;Put 在幼果和成熟果中均未被测到。同时,作为上述 4 种多胺的分解产物 4-氨基丁醛的含量也在成熟果中显著下降,仅为幼果的 0.24 倍(表 1)。

分析不常见多胺在越橘果实中的存在情况发现,尸胺、降亚精胺、高嗜热戊胺、刀豆氨酸、高亚精胺、高嗜热己胺、嗜热戊胺和氨丙基尸胺在幼果和成熟果中均未被测到,但降精胺是一个例外,它在幼果和成熟果中均存在,但积累量无显著差异(表 1)。

进一步分析多胺合成相关化合物在越橘果实中的存在情况发现,鸟氨酸和精氨酸作为多胺合成的起始化合物,其含量在成熟果中均显著下降,为幼果的 0.2 倍左右;胍丁胺含量在幼果和成熟果中无显著差异;氨甲酰腐胺、dcSAM 在成熟果和幼果中均未被检测到。但 SAM 含量在成熟果中显著增加,其积累量达到了幼果的 3.9 倍(表 1)。可见,除 SAM 外,多胺及其合成代谢相关化合物含量均在成熟果中无明显增加,且多数表现为显著下降趋势。

2.2 多胺合成代谢相关酶基因表达水平变化

为进一步阐明越橘成熟果中多胺合成代谢相关化合物含量降低的遗传基础,本试验又研究了多胺合成相关酶基因的表达情况(表 2)。结果表明:Put 合成作为多胺合成的第一阶段,其合成通路中精氨酸脱羧酶基因和胍丁胺亚氨基水解酶基因的表达量在成熟果和幼果间无显著变化;而鸟氨酸脱羧酶基因和氨甲酰腐胺酰胺酶基因的表达量在成熟果中明显下降,其表达量均低于幼果表达量的 1/2,表明成熟果中 Put 合成基因的表达已部分减弱。在 Spd、Spm 和 tSpm 合成通路中,编码 SAM 脱羧酶和 Spd 合成酶的基因在成熟果中表达上调,而编码 Spm 合成酶和 tSpm 合成酶的基因表达下调,表明 Spm 和 tSpm 合成通路的上游基因表达活跃,而下游基因表达减弱。在多胺回转通路中,多胺氧化酶 1 和多胺氧化酶 5 基因表达量显著下降,而多胺氧化酶 4 的基因表达量无明显变化,表明成熟果中多胺回转基因的表达活跃度也在部分下降。在末端代谢通路中,二胺氧化酶基因表达量显著上调,表明多胺分解基因在成熟果中表达活跃。

表 1 越橘果实中多胺合成代谢相关化合物的积累水平变化

化合物种类	化合物名称	KEGG 号	保留时间/min	质荷比	加合离子	成熟果中的含量($\times 10^3$)	幼果中的含量($\times 10^3$)	变化倍数	P 值
常见多胺	亚精胺(Spd)	C00315	0.48	146.165 0	[M+H] ⁺	65.7 $\pm$ 20.2	209.9 $\pm$ 13.0	0.31	0.02
	热精胺(tSpm)	C19669	0.49	203.222 6	[M+H] ⁺	1.5 $\pm$ 0.6	3.6 $\pm$ 1.0	0.41	0.05
	精胺(Spm)	C00750	0.49	203.222 6	[M+H] ⁺	1.5 $\pm$ 0.6	3.6 $\pm$ 1.0	0.41	0.05
	4-氨基丁醛	C00555	1.15	70.065 5	[M+H-H ₂ O] ⁺	5.2 $\pm$ 1.7	21.5 $\pm$ 2.7	0.24	0.05
不常见多胺	降精胺	C21004	7.73	227.164 0	[M+K] ⁺	13.0 $\pm$ 2.5	11.8 $\pm$ 2.4	1.10	0.72
			7.06	227.164 0	[M+K] ⁺	31.2 $\pm$ 10.7	27.8 $\pm$ 2.0	1.12	0.97
			7.93	227.163 7	[M+K] ⁺	13.9 $\pm$ 2.2	11.9 $\pm$ 1.7	1.17	0.47
			6.81	227.164 4	[M+K] ⁺	367.8 $\pm$ 60.3	291.4 $\pm$ 40.1	1.26	0.28
多胺合成代谢 相关化合物	鸟氨酸	C00077	0.58	131.081 3	[M-H] ⁻	91.1 $\pm$ 16.8	406.4 $\pm$ 36.0	0.22	0.00
	精氨酸	C00062	0.59	197.100 8	[M+Na] ⁺	11.5 $\pm$ 2.1	56.7 $\pm$ 25.3	0.20	0.02
			0.58	173.103 1	[M-H] ⁻	461.2 $\pm$ 75.7	1 820.4 $\pm$ 174.0	0.25	0.00
	胍丁胺	C00179	4.35	169.084 9	[M+K] ⁺	36.6 $\pm$ 2.4	38.7 $\pm$ 3.5	0.94	0.61
	S-腺苷蛋氨酸 (SAM)	C00019	3.93	433.103 9	[M+Cl] ⁻	97.0 $\pm$ 32.8	24.9 $\pm$ 7.1	3.90	0.04
			0.66	399.143 8	[M+H] ⁺	325.0 $\pm$ 32.0	58.1 $\pm$ 7.1	5.59	0.00

注:变化倍数为成熟果中的含量/幼果中的含量。

表 2 多胺合成代谢相关酶基因表达水平变化

合成阶段	蛋白酶名称	酶编号	基因表达				
			组装体编号	log ₂ 变化倍数	错误发现率		
Put 合成	鸟氨酸脱羧酶	EC:4.1.1.17	CL1614. Contig3	-1.40	1.0E-03		
			CL10237. Contig2	-1.01	5.3E-41		
	精氨酸脱羧酶	EC:4.1.1.19	Unigene13588	-1.52	9.9E-05		
			CL4822. Contig1	0.71	1.3E-50		
			CL4822. Contig2	0.30	2.8E-09		
			CL4822. Contig3	0.48	2.0E-22		
			胍丁胺亚氨基酸水解酶	EC:3.5.3.12	CL7485. Contig1	-0.48	7.2E-09
					CL7485. Contig2	-0.42	4.1E-07
	Spd、Spm、 tSpm 合成	SAM 脱羧酶	EC:4.1.1.50	CL1038. Contig1	1.64	7.8E-231	
				CL1038. Contig2	4.01	0.0E+00	
CL1038. Contig3				3.85	0.0E+00		
CL1038. Contig5				4.19	1.2E-236		
Spd 合成酶		EC:2.5.1.16	Unigene19905	5.67	4.4E-14		
			Unigene14266	-0.16	2.3E-02		
tSpm 合成酶		EC:2.5.1.79	Unigene14454	-7.44	7.2E-16		
Spm 合成酶		EC:2.5.1.16	Unigene6754	-1.01	2.2E-19		
多胺回转代谢 和末端代谢	二胺氧化酶	EC:1.4.3.22	CL11229. Contig1	2.26	1.9E-68		
			CL11229. Contig2	2.61	7.7E-81		
	多胺氧化酶 4	EC:1.5.3.17	Unigene7761	0.97	3.1E-06		
	多胺氧化酶 5	EC:1.5.3.16	CL8364. Contig1	-1.14	6.1E-07		
			CL8364. Contig2	-3.69	4.9E-56		
			CL8364. Contig4	-6.17	2.9E-235		
多胺氧化酶 1	EC:1.5.3.14	Unigene43547	-3.61	6.9E-05			

注:log₂ 变化倍数>1.0 或<-1.0,表示差异显著;-1 $\leq$ log₂ 变化倍数 $\leq$ 1,表示差异不显著。变化倍数为成熟果中的基因表达量/幼果中的基因表达量。

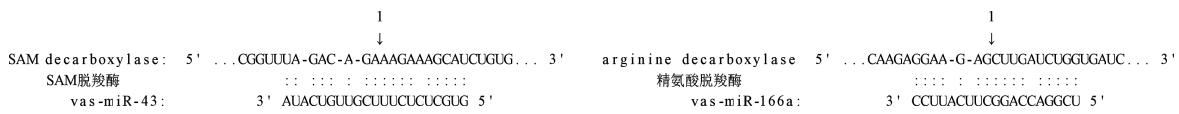
2.3 多胺合成代谢相关 miRNA 鉴定

为进一步研究 miRNA 对多胺合成代谢酶基因的调控,基于越橘 miRNA 和降解组数据,对多胺合成代谢相关的 miRNA 进行了鉴定。结果表明,SAM 脱羧酶基因和精氨酸脱羧酶基因分别被确定为 vas-miR-43

和 vas-miR-166a 的靶基因(图 1)。

在幼果和成熟果中,SAM 脱羧酶基因的表达水平分别为 22.74 FPKM (fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped) 和 70.73 FPKM, vas-miR-43 的表达水平分别为 3.61 RPM (reads per million) 和 0 RPM,二者呈现出了典型的相反表达行为。基于降解组数据的切点验证表明,1 条来自幼果的降解组序列覆盖在 SAM 脱羧酶基因上,其 5' 端对应靶基因互作区中 miRNA 的 5' 端第 10 位核苷酸处,表明 SAM 脱羧酶基因在该位点发生了 miRNA 剪切行为。

分析精氨酸脱羧酶基因和 vas-miR-166a 的表达发现,精氨酸脱羧酶基因在幼果和成熟果中的表达量分别为 23.28 FPKM 和 37.99 FPKM, vas-miR-166a 的表达量分别为 15 336.44 RPM 和 27 933.54 RPM,二者表达趋势并不相反,这表明它们可能还存在着其他调控机制。切点验证表明,幼果和成熟果中均存在 1 条覆盖在精氨酸脱羧酶基因上的降解组序列,其 5' 端与靶基因互作区中 miRNA 的 5' 端第 10 位核苷酸对应,表明精氨酸脱羧酶基因在幼果和成熟果中均被 vas-miR-166a 剪切。

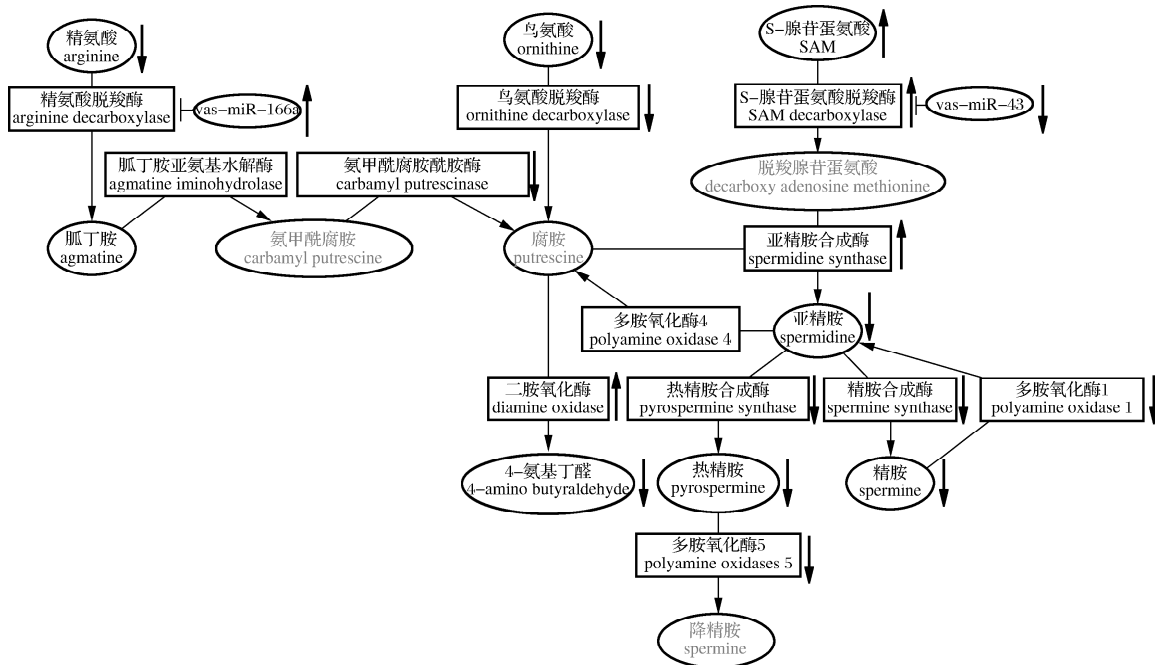


注:箭头上的数字表示降解组片段的数目,箭头表示 miRNA 的剪切位点。

图 1 SAM 脱羧酶基因和精氨酸脱羧酶基因的 miRNA 剪切和降解组验证

2.4 多胺合成代谢网络图谱的构建

基于上述研究,本试验构建了越橘成熟果中多胺合成代谢网络图谱。由图 2 可见:1)合成 Put、Spd、Spm、4-氨基丁醛、降精胺等多胺化合物的直接底物和蛋白酶基因中,至少有一个处于未被检测或者低积累状态;2)SAM、SAM 脱羧酶、Spd 合成酶均处于高积累水平,但 SAM 的产物 dcSAM 未被检测到,这是因为 dcSAM 在越橘成熟果实中分解代谢极为迅速;3)2 个 miRNA 的调控位置均出现在 Put 合成和 Spd 合成的第一步,说明起始调控是多胺生物合成的关键位置。



注:加粗向下箭头表示成熟果实中化合物积累或基因表达水平显著低于幼果,加粗向上箭头表示显著高于幼果;灰色字体表示未检测到的化合物。

图 2 越橘成熟果实中多胺生物合成代谢网络图谱

3 结论与讨论

多胺是一类小分子脂肪胺化合物,它在植物生长、形态建成、延缓衰老、环境适应中发挥着重要作用。然而越橘中关于多胺合成代谢及其 miRNA 调控方面的研究较少,本研究揭示了越橘果实中多胺合成代谢相关的化合物、基因以及 miRNA 的积累变化情况,并构建了多胺合成代谢网络图谱。

一般来说,随着果实的成熟,多胺积累量会逐渐减少^[16],本文关于越橘多胺的研究结果支持了这一观点,如多胺(包括 Spd、Spm、4-氨基丁醛和 tSpm 等)在越橘成熟果实中的含量均低于幼果。此外,在这些多胺化合物合成过程中,相应催化酶基因的低表达量又进一步证明了这一现象。

许多不常见多胺(如降精胺、降亚精胺和嗜热戊胺)的高积累现象,常被认为与干旱、高温等非生物胁迫有关^[17]。本研究在幼果和成熟果中均检测到降精胺,说明在越橘果实中可能存在非生物胁迫现象^[18]。

SAM 脱羧酶催化 SAM 生成 dcSAM,此反应过程是 Spd、Spm 和 tSpm 合成的起始步骤。本研究发现,SAM 和 SAM 脱羧酶基因均在成熟果实中高积累,但它们的共同产物 dcSAM 却未被检测到,故推测可能还存在其他调控机制。目前,已有研究报道了 SAM 参与乙烯的合成^[19],SAM 脱羧酶存在转录后水平调控现象^[20-21],这些结论与本研究结果相似。

先前研究中,Hu 等报道了 SAM 脱羧酶基因的高表达和 Spd、Spm 的低积累现象^[20],Alcazar 等曾推测认为,Spm 低积累是由于 Spm 被快速代谢所致^[12],本研究也观察到这些特征,如越橘成熟果实中 SAM 脱羧酶基因的高表达和 Spd、Spm 的低积累,造成了末端代谢环节中二胺氧化酶基因的高表达。

已有报道认为,SAM 脱羧酶基因在翻译水平上受到 Spd 和 Spm 的调控^[22-23],或在转录后水平上受其 5'端主导序列的调控^[20-21]。本文进一步研究发现,SAM 脱羧酶基因在转录后水平上被 vas-miR-43 靶向并进行了切割调控,为其转录后水平调控提供了一种新机制。

在多胺末端代谢过程中,二胺氧化酶基因在成熟果实中高表达,但其分解产物 4-氨基丁醛并没有显著增加,我们推测,这可能是由于 4-氨基丁醛再利用机制的加强所致。

本研究将全基因组尺度上的代谢组、转录组、降解组数据与生物信息学分析相结合,在代谢和转录水平上系统分析了越橘多胺化合物的合成过程,从而为人们认识和利用越橘多胺提供了分子基础。

参考文献:

- [1] FORTES A M, AGUDELO R P. Polyamine metabolism in climacteric and non-climacteric fruit ripening[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2018, 104: 433 - 447
- [2] POIDEVIN L, UNAL D, BELDA P B, et al. Polyamines as quality control metabolites operating at the post-transcriptional level[J]. *Plants Basel*, 2019(4): 109 - 117
- [3] MEHTA R A, CASSOL T, LI N, et al. Engineered polyamine accumulation in tomato enhances phytonutrient content, juice quality, and vine life[J]. *Nature Biotechnology*, 2002, 20(6): 613 - 618
- [4] 宋杨, 刘红弟, 王海波, 等. 越橘花青苷合成相关基因 VcTTG1 的克隆与功能鉴定[J]. *园艺学报*, 2019, 46(7): 1270 - 1278
- [5] SCHOTSMANS W, MOLAN A, MACKAY B. Controlled atmosphere storage of rabbiteye blueberries enhances postharvest quality aspects[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2007, 44(3): 277 - 285
- [6] RASIOUNY F M. Blueberry fruit quality and storability influenced by postharvest application of polyamines and heat treatments[J]. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 1996, 109: 269 - 272
- [7] MORTAZAVI S M H, SIRUIE B, MOALEMI N, et al. The effects of polyamines and UV-C irradiation on postharvest quality of strawberry fruit[J]. *Acta Horticulturae*, 2014, 104: 749 - 754
- [8] CHEN X, QIU L, GUO H, et al. Spermidine induces physiological and biochemical changes in southern highbush blueberry under drought stress[J]. *Brazilian Journal of Botany*, 2017, 140: 841 - 851
- [9] HAMANA K, MATSUZAKI S, NIITSU M, et al. Distribution of unusual polyamines in leguminous seeds[J]. *Can J Bot*, 1992, 70(10): 1984 - 1990
- [10] 陈志远, 赵冠杰, 魏若男. 蓝莓果实发育期内源精胺的 CE-ECL 分析及与保鲜品质的关系[J]. *分子植物育种*, 2019, 17(7): 2356 - 2362

- [11] TSANIKLIDIS G, KOTSIRAS A, TSAFOUROS A, et al. Spatial and temporal distribution of genes involved in polyamine metabolism during tomato fruit development[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 100: 27 – 36
- [12] ALCAZAR R, ALTABELLA T, MARCO F, et al. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance[J]. *Planta*, 2010, 231(6): 1237 – 1249
- [13] DHANARAJ A L, ALKHAROUF N W, BEARD H S, et al. Major differences observed in transcript profiles of blueberry during cold acclimation under field and cold room conditions[J]. *Planta*, 2007, 225(3): 735 – 751
- [14] INOSTROZA B C, AQUEA F, REYES D M, et al. Identification of aluminum-regulated genes by cDNA-AFLP analysis of roots in two contrasting genotypes of high bush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. *Molecular Biotechnology*, 2011, 49(1): 32 – 41
- [15] LI G, WANG Y, LOU X, et al. Identification of blueberry miRNAs and their targets based on high-throughput sequencing and degradome analyses[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(4): 983 – 989
- [16] KUSHAD M M, YELENOSKY G, KNIGHT R. Interrelationship of polyamine and ethylene biosynthesis during avocado fruit development and ripening[J]. *Plant Physiology*, 1988, 87(2): 463 – 467
- [17] KUEHN G D, RODRIGUEZ G B, BAGGA S, et al. Novel occurrence of uncommon polyamines in higher plants[J]. *Plant Physiology*, 1990, 94(3): 855 – 857
- [18] PATHAK M R, TEIXEIRA D A, SILVA J A, et al. Polyamines in response to abiotic stress tolerance through transgenic approaches[J]. *GM Crops Food*, 2014(2): 87 – 96
- [19] LASANAJAK Y, MINOCHA R, MINOCHA S C, et al. Enhanced flux of substrates into polyamine biosynthesis but not ethylene in tomato fruit engineered with yeast S-adenosylmethionine decarboxylase gene[J]. *Amino Acids*, 2014, 46(3): 729 – 742
- [20] HU W W, GONG H, PUA E C. The pivotal roles of the plant S-adenosylmethionine decarboxylase 5' untranslated leader sequence in regulation of gene expression at the transcriptional and posttranscriptional levels[J]. *Plant Physiology*, 2005, 138(1): 276 – 286
- [21] CUEVAS J C, LPEZC R, ALCZAR R, et al. Putrescine is involved in arabidopsis freezing tolerance and cold acclimation by regulating abscisic acid levels in response to low temperature[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148(2): 1094 – 1105
- [22] HANFREY C, FRANCESCHETTI M, MAYER M J, et al. Abrogation of upstream open reading frame-mediated translational control of a plant S-adenosylmethionine decarboxylase results in polyamine disruption and growth perturbations [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(46): 44131 – 44139
- [23] HANFREY C, ELLIOTT K A, FRANCESCHETTI M, et al. A dual upstream open reading frame-based autoregulatory circuit controlling polyamine-responsive translation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(47): 39229 – 39237

(责任编辑:谭彩霞)