

冷藏和乙烯处理对采后苹果果实糖代谢及关键基因表达的调控

齐秀东¹, 魏建梅²

(1. 河北科技师范学院继续教育学院, 河北秦皇岛 066004)

(2. 中国环境管理干部学院生态学系, 河北秦皇岛 066004)

摘要: 以富士和金冠苹果果实为试材, 研究了冷藏和乙烯处理对其果实软化过程糖代谢及关键基因表达变化的影响。结果表明, 随果实软化淀粉含量及淀粉酶(AM)活性的变化在品种间的差异显著, 2 mL/L 乙烯利和 0.5 μ L/L 1-MCP 处理分别显著促进和抑制了 *MdAM* 基因的表达, 在富士上表现在贮藏后期, 而对金冠的影响则表现在贮藏前期, 0 $^{\circ}$ C 冷藏均显著抑制了两品种果实 *MdAM* 的基因表达, 表明淀粉降解参与了苹果果实的软化进程, 显著受到低温和乙烯的调节。可溶性糖中, 蔗糖含量显著增加, 并显著受乙烯和低温的影响, 其中 SPS 在采后果实糖代谢中的作用强于 SS 和 AI, SPS 活性和 *MdSPS* 基因表达亦显著受到乙烯利的促进和 1-MCP 的抑制, 且对金冠的影响强于富士, 低温下果实糖含量及酶活性变化较小, *MdSPS* 基因表达显著受到抑制, 表明蔗糖积累和 SPS 与采后苹果糖代谢和果实软化的关系较为密切。

关键词: 苹果; 冷藏和乙烯调控; 果实软化; 糖代谢; 基因表达

文章编号: 1673-9078(2015)7-137-145

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.023

Effect of Cold Storage and Ethylene Regulation on Sugar Metabolism and Its Key Gene Expression in Post-harvest Apple Fruit

QI Xiu-dong¹, WEI Jian-mei²

(1. School of Continuing Education, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao 066004, China)

(2. Department of Ecology, Environmental Management College of China, Qinhuangdao 066004, China)

Abstract: 'Fuji' and 'Golden Delicious' apple fruits were taken as material to study the sugar metabolism and the key enzyme gene expression during fruit softening and how they were affected by cold storage or ethylene treatment. The results indicated that the starch content and amylase(AM) activity showed the most significant changes between 'Fuji' and 'Golden Delicious' and were dramatically regulated by low temperature and ethylene. Accordingly, the expression of *MdAM* was significantly promoted by the treatment of 2 mL/L ethephon while inhibited by 0.5 μ L/L 1-MCP treatment at the late stage of storage in 'Fuji' fruit or at the early stage of storage in 'Golden Delicious' fruit. Meanwhile the expression of *MdAM* was significantly inhibited under 0 $^{\circ}$ C storage in both cultivars. This suggest that post-harvest starch degradation involved in apple fruit softening and are significantly affected by cold storage and ethylene treatment. Among the soluble sugars, the sucrose content increased clearly and was significantly subjected to the regulation by ethylene and low temperature, and the SPS had much stronger effect on sugar metabolism in post-harvest apple fruit than those of SS and AI. The SPS activity and the expression of *MdSPS* were significantly promoted by ethephon treatment and inhibited by 1-MCP treatment in 'Golden Delicious' fruit. This phenomenon was stronger than that in 'Fuji' fruit during storage. Less variation was observed on the fruit sugars content and the enzyme activity under cold storage, and the expression of *MdSPS* was significantly inhibited. These indicated that sucrose accumulation and SPS may have more close correlation with fruit softening among the regulation of sugar metabolism.

Key words: *Malus domestica* Borkh.; cold storage and ethylene regulation; fruit softening; sugar metabolism; gene expression

收稿日期: 2014-09-03

基金项目: 河北省科技支撑计划项目(12226806); 河北省博士专项基金项目(2010055006)

作者简介: 齐秀东(1970-), 男, 副研究员, 研究方向为果品贮藏保鲜与加工
通讯作者: 魏建梅(1973-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为果实采后生理与分子生物学

低温贮藏是目前果品保鲜中采用比较广泛也是最有效的技术手段之一。低温能显著抑制果实的各种代谢活动和营养消耗, 从而有效延缓果实后熟软化, 达到保鲜的目的^[1-2]。乙烯作为一种成熟衰老激素, 在果实后熟软化中调控作用显著。人为抑制或促进果实乙烯的生成, 可延缓或加速果实后熟软化进程^[2]。1-

甲基环丙烯(1-MCP)作为一种新型的乙烯受体抑制剂,能有效阻断乙烯与受体结合,抑制对乙烯敏感型的果实的后熟与衰老,进而保持细胞结构完整、抑制硬度降低而有效控制果实软化^[3-5]。因此,低温贮藏和乙烯调控处理不仅是延缓果实后熟软化进程的重要手段,而且也是采后果实软化调控机理研究的有效方法。

苹果(*Malus domestica* Borkh.)为典型的呼吸跃变型果实,凡是抑制或促进乙烯生成的因素均影响其后熟软化进程^[6]。然而,由于苹果品种特性的差异,不同品种果实质地软化特性存在显著差异。但是,目前关于果实软化机理的研究多集中在细胞壁代谢以及保护酶类引起的生理衰老过程中,对细胞内含物质(如糖和淀粉等)的代谢与果实软化的关系却关注很少。国内外对果实发育期糖和淀粉代谢的作用研究很多,但对其与采后果实品质变化和质地软化的关系研究尚缺乏系统报道。糖和淀粉作为果实细胞的主要内含物质,其成分和含量的变化影响果实细胞的膨压和张力,进而影响果实软化进程。因此,本研究以富士和金冠果实为试材,分析采后低温和乙烯处理对苹果果实后熟软化过程中糖和淀粉的代谢及其关键酶基因表达特性的影响,来探讨糖代谢与果实采后软化的关系,以期进一步阐述苹果果实软化机理,为果实品质改良和贮藏技术的改进提供理论指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与处理

以富士和金冠苹果果实为试材,依据果实成熟期(富士为花后165 d左右,金冠为花后135 d左右)适时采收,选取无病、虫、伤和成熟度一致的果实,置于阴凉处散掉田间热后进行如下处理:(1)冷藏处理:将果实预冷后于 0 ± 0.5 °C下贮藏;对照为直接将果实于常温(20 ± 1) °C下贮藏。(2)乙烯调控处理:分别用1-MCP(0.18%)和乙烯利(40%)处理果实。1-MCP处理是将果实在含有 $0.5\ \mu\text{L/L}$ 1-MCP的密闭容器中常温(20 ± 1) °C下熏蒸24 h后通风1 h,常温(20 ± 1) °C下贮藏;乙烯利处理是将果实用 $2\ \text{mL/L}$ 的乙烯利溶液浸泡5 min后取出晾干,常温(20 ± 1) °C下贮藏。每个处理100 kg果实。贮藏前期每隔7 d采样1次,贮藏28 d后每隔14 d采样1次。每次采样均在上午进行,随机选取20个果实,测定呼吸速率和硬度变化,同时随机选5-6个果实,切成 $2\sim 3\ \text{cm}^3$ 小块,液氮速冻, -70 °C保存用于其它指标的测定。

1.2 果实呼吸速率和硬度测定

果实呼吸速率用气流法测定^[7],气流速度 $0.4\ \text{L/min}$,单位 $\text{CO}_2\ \text{mg}/(\text{kg}\ \text{h})$,重复3次。硬度采用GY-4型数显硬度计测定,每次测量5个果实,在果实胴部对称均匀选取2个点,重复10次,取平均值。

1.3 可溶性糖和淀粉含量测定

参照赵智中等^[8]的方法,略加修改,分别称取 $2.0\ \text{g}$ 冷冻的鲜样果实,研磨,加80%乙醇 $80\ ^\circ\text{C}$ 水浴20 min,离心,集中上清液,重复3次,然后蒸去乙醇,加 $2\ \text{mL}$ 水溶解残留物,微孔滤膜($0.25\ \mu\text{m}$)过滤,待测蔗糖、葡萄糖和果糖含量。可溶性糖含量采用日本岛津高效液相色谱仪测定,采用RID-10A示差折光检测器,色谱柱为CLC-NH₂柱,柱温 $40\ ^\circ\text{C}$,流速 $1.0\ \text{mL/min}$,流动相为85%的乙腈,每次进样量 $10\ \mu\text{L}$ 。根据各种糖的标准曲线和样品峰高计算其含量。将提取上述可溶性糖的残余物用高氯酸提取,蒽酮比色法测定生成的葡萄糖含量,根据葡萄糖标准曲线计算淀粉含量。重复3次。

1.4 蔗糖磷酸合成酶(SPS)、蔗糖合成酶(SS)、酸性转化酶(AI)和淀粉酶(AM)活性测定

酶液提取和活性测定均参照Merlo等^[9]和Itai等^[10]的方法,略加改进。称取 $1.0\ \text{g}$ 冷冻的鲜样果实于冰浴中研磨,加入 $6\ \text{mL}$ 提取液($50\ \text{mmol/L}$ HEPES- NaOH, $\text{pH}\ 7.5$, $10\ \text{mmol/L}$ MgCl_2 , $1\ \text{mmol/L}$ EDTA, $2.5\ \text{mmol/L}$ DTT, 0.05% Tritonx-100和 0.1% BSA),匀浆,经4层冷却的脱脂纱布过滤,于 $4\ ^\circ\text{C}$ 下 $12,000\ \text{r/min}$ 离心 $10\ \text{min}$,上清液于 $4\ ^\circ\text{C}$ 下稀释10倍的提取液透析12 h以上,透析后的酶液用于酶活性测定。蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性测定的反应混合液($140\ \mu\text{L}$)包含: $100\ \text{mmol/L}$ HEPES缓冲液($\text{pH}\ 7.5$), $4\ \text{mmol/L}$ F-6-P, $3\ \text{mmol/L}$ UDPG, $1\ \text{mmol/L}$ EDTA, $5\ \text{mmol/L}$ MgCl_2 和 $80\ \mu\text{L}$ 酶液(空白为相同体积的底物、缓冲液和煮死酶液)。 $37\ ^\circ\text{C}$ 下反应 $40\ \text{min}$, $70\ \mu\text{L}$ $1\ \text{mol/L}$ NaOH终止,沸水浴 $5\ \text{min}$,冷却,加 $0.5\ \text{mL}$ 浓HCL和 $0.5\ \text{mL}$ 12%间苯二酚, $80\ ^\circ\text{C}$ 反应 $10\ \text{min}$,冷却,测定 $520\ \text{nm}$ 下的吸光值。根据蔗糖标准曲线来计算酶活性。蔗糖合成酶(SS)的反应混合液($140\ \mu\text{L}$)包括: $3\ \text{mmol/L}$ UDPG, $3\ \text{mmol/L}$ 果糖, $5\ \text{mmol/L}$ MgCl_2 , $50\ \text{mmol/L}$ HEPES缓冲液($\text{pH}\ 7.5$)和 $80\ \mu\text{L}$ 酶提取液。 $37\ ^\circ\text{C}$ 下保温 $40\ \text{min}$, $70\ \mu\text{L}$ $1\ \text{mol/L}$ NaOH终止,沸水浴 $5\ \text{min}$,冷却,分别加入 $0.5\ \text{mL}$ 12%间苯二酚和浓HCL, $80\ ^\circ\text{C}$ 保温 $8\ \text{min}$,冷却,测定 $520\ \text{nm}$ 下的吸光值(空白包括底物、缓冲液和煮死的酶液)。根据蔗糖

标准曲线来计算酶活性。酸性转化酶 (AI) 活性测定: 反应液(1 mL)包含:0.1 mol/L 乙酸钠缓冲液(pH 4.8)、0.1 mol/L 蔗糖和0.2 mL 酶液。37 °C 反应 40 min, 加 1 mL 3,5-二硝基水杨酸, 煮沸 5 min, 冷却, 离心, 上清液用于测定还原糖的量 (OD₅₂₀), 空白同上。淀粉酶 (AM) 活性测定的反应液 (1 mL) 包含: 40 μL 酶提取液、0.1 mol/L 乙酸钠缓冲液 (pH 6.5)、5 mmol/L Ca(NO₃)₂、1.5 mmol/L NaF 和 0.5% 可溶性淀粉。37 °C

下反应 20 min, 用 1 mL 3,5-二硝基水杨酸终止反应, 煮沸 5 min, 冷却, 测定还原糖的量 (OD₅₂₀), 空白同上。均重复 3 次。

1.5 果实总 RNA 提取及 Real-time 荧光定量 PCR 检测

表 1 苹果果实 *MdSPS* 和 *MdAM* 基因定量 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for qPCR amplification of the *MdSPS* and *MdAM* genes in apple cultivars

基因名称	引物序列 Primer sequence	
<i>MdSPS</i>	S5' TATCAACGCAACCTACAAGA 3'	A5' AGGCAACTAACTCCACGAC 3'
<i>MdAM</i>	S5' ACGAACATCAGCCACAGGAC 3'	A5' CCGAACAAACTCAGAAAACG 3'
<i>18S</i>	S5' CCATTGGAGGGCAAGTCT 3'	A5' GGTTCTCAGCTACACGA 3'

果实总 RNA 的提取采用改良 CTAB 法, 并通过紫外分光光度计 (UV-1700) 测 A₂₆₀、A₂₈₀、A₂₃₀ 和进行 0.8% 琼脂糖凝胶电泳, 检测 RNA 质量和完整性。采用 premier 5.0 软件设计 *MdSPS* 和 *MdAM* 基因的 QPCR 引物 (表 1)。选取 500 ng 的 RNA 模板量用 TaKaRa 逆转录试剂盒合成 cDNA 第一链, 采用 iQTM5 多重实时荧光定量 PCR 仪进行基因的定量表达检测^[11]。反应总体积 (20.0 μL) 包括 1.0 μL cDNA 模板, 10.0 μL SYBR® Premix Ex TaqTM (2×), 0.5 μL 特异引物, 94 °C 退火 5 min, 94 °C 5 s, 55~60 °C 退火 10 s, 72 °C 延伸 10 s (荧光检测), 设循环 40 个。每次 PCR 均以 *18S* 为阴性对照 (表 1)。用 2-ΔΔCT 方法进行数据分析。每次均设 3 次平行管重复。

内呼吸速率一直未见明显的上升趋势, 处理 42 d 才出现呼吸跃变峰; 0 °C 低温处理也显著抑制了金冠果实的呼吸速率, 推迟了呼吸跃变期, 且峰值显著降低 (图 1b)。金冠果实硬度在呼吸高峰之后迅速降低, 在贮藏 56 d 后降到 6.0 kg/cm² 以下, 1-MCP 处理使其果实硬度基本恒定, 极显著地抑制了果实软化, 0 °C 低温亦极显著推迟了金冠果实软化, 延长了贮藏期, 而乙烯利一定程度促进了其果实软化进程 (图 2b), 证实了金冠果实较富士易于后熟软化, 且其对低温和乙烯的敏感程度强于富士。

1.6 数据统计分析

采用 Excel 和 DPS 软件进行绘图和数据统计分析。

2 结果与讨论

2.1 果实呼吸速率和硬度的变化

富士作为优良的耐贮苹果品种, 在整个贮藏过程其果实呼吸速率很低, 采后 14 d 和 42 d 仅出现很小的跃变峰, 乙烯利处理对其提高呼吸速率有所促进, 但 1-MCP 和低温处理对其呼吸速率的抑制效果不显著 (图 1a), 且无论是 1-MCP 还是乙烯利处理, 其果实硬度一直保持在 8.0 kg/cm² 以上, 低温贮藏则更好地维持了其原有硬度 (图 2a)。而金冠果实呼吸速率高且采后仅 7 d 就出现较高跃变峰, 后迅速下降, 乙烯利处理一定程度上促进了其呼吸速率和峰值的提高, 1-MCP 处理极显著抑制了其果实呼吸代谢, 处理 21 d

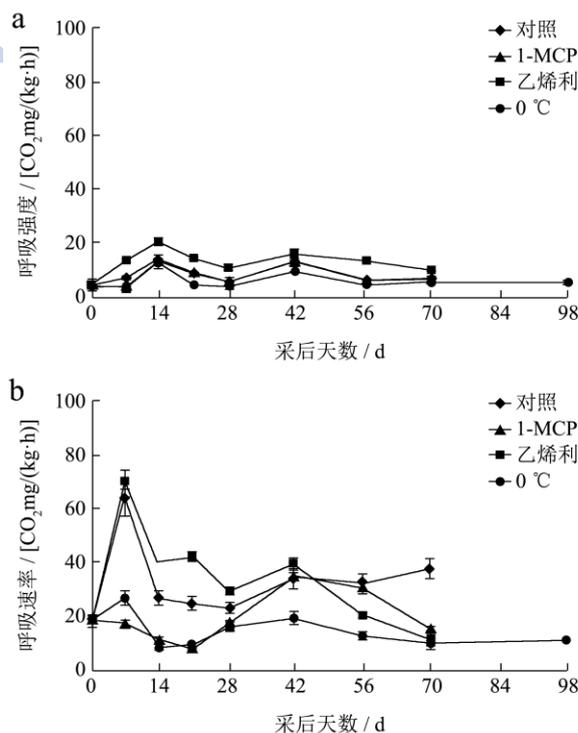


图 1 采后调控对苹果果实呼吸速率的影响

Fig.1 Effect of post-harvest regulation on respiration rate in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

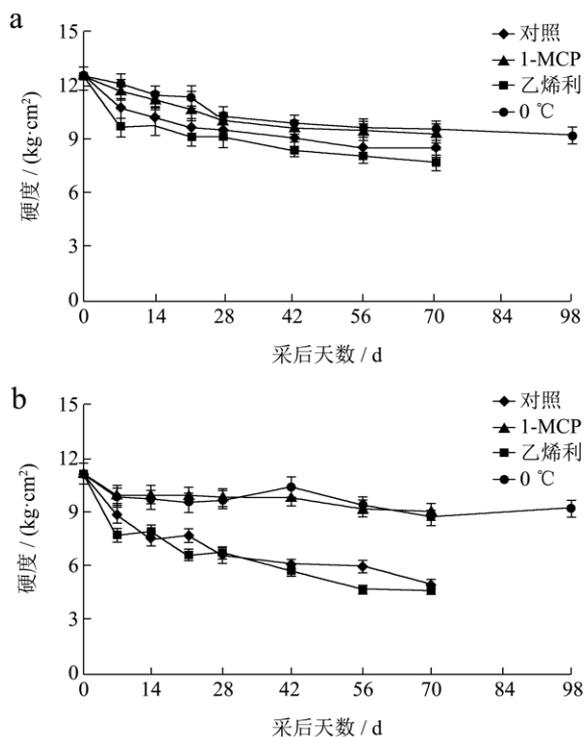


图2 采后调控对苹果果实硬度的影响

Fig.2 Effect of post-harvest regulation on the firmness of apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

2.2 果实可溶性糖和淀粉含量变化

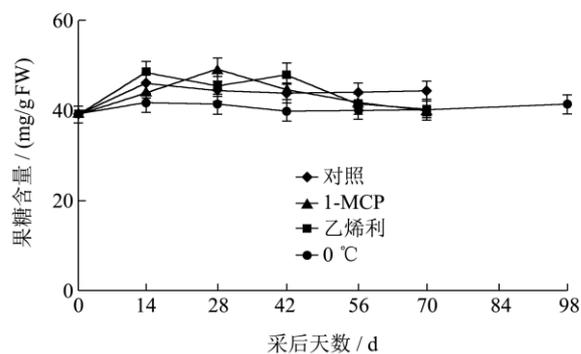
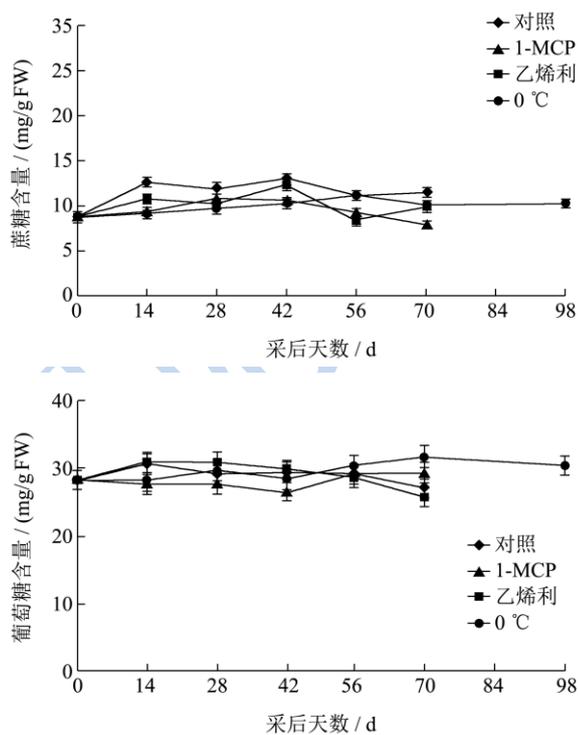


图3 采后调控对富士苹果果实可溶性糖含量变化的影响

Fig.3 Effect of post-harvest regulation on variation in fructose, glucose, and sucrose contents in Fuji apple fruits

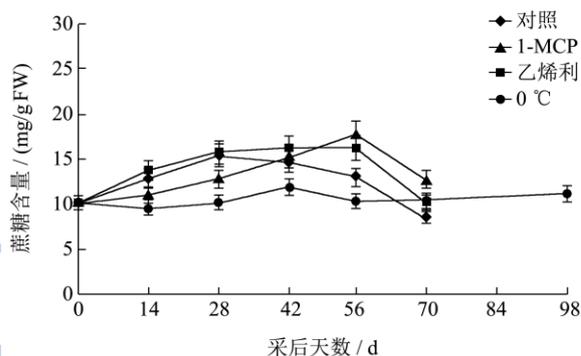


图4 采后调控对金冠苹果果实可溶性糖含量变化的影响

Fig.4 Effect of post-harvest regulation on variation in fructose, glucose, and sucrose contents in Golden Delicious apple fruits

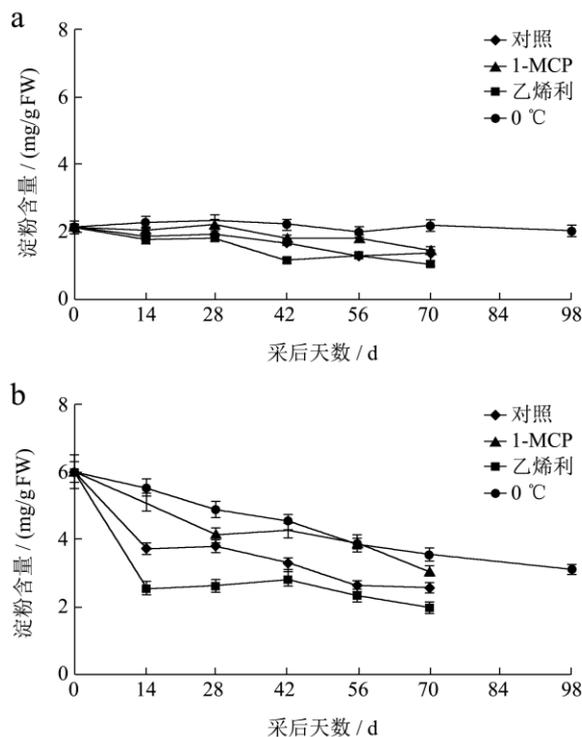


图5 采后调控对苹果果实淀粉含量变化的影响

Fig.5 Effect of post-harvest regulation on variation in starch content in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

富士苹果的蔗糖和果糖在采收初期稍有积累, 随贮藏时间延长二者的含量又有所下降, 但幅度不大, 而葡萄糖无显著变化。冷藏后, 富士果实蔗糖、果糖和葡萄糖含量波动不大; 1-MCP 处理则抑制了富士果实果糖和蔗糖的积累, 而乙烯利处理对蔗糖含量的积累有一定促进作用 (图3)。采后金冠果实蔗糖和葡萄糖含量变化显著, 贮藏期间蔗糖含量不断积累, 到后期含量下降, 而葡萄糖含量在采收初期小幅度提高后下降, 果糖含量变化不大。但采后调控处理影响最显著的是蔗糖, 0 °C 低温下金冠果实蔗糖没有显著的变化, 1-MCP 则显著降低了其蔗糖的积累, 乙烯利的促进作用不大, 除低温基本保持了果糖和葡萄糖的原有含量外, 乙烯利和 1-MCP 处理对这两种糖的影响较小 (图4)。采后富士果实淀粉含量低且没有明显的降低趋势, 贮藏 70 d 其含量仅降低了 1.0 mg/g FW 左右, 乙烯利和 1-MCP 处理对其淀粉含量变化的影响不显著, 而 0 °C 低温则有效抑制了淀粉的降解。而采后金冠果实淀粉含量显著高于富士, 贮藏初期其含量快速降低, 随后下降趋缓, 乙烯利处理显著促进了金冠果实淀粉的降解, 1-MCP 和低温处理亦显著减缓淀粉的降解速率, 但未完全抑制其下降趋势 (图5)。相关性分析表明, 金冠果实淀粉含量变化与硬度极显著正相关, 显著强于富士, 乙烯利处理对其相关度存在一定

程度的促进, 1-MCP 处理后富士和金冠果实淀粉与硬度间的相关性均不显著, 该相关度亦受到冷藏的极显著抑制。而可溶性糖中, 蔗糖与硬度变化的相关性最强, 在富士上达显著水平, 而在金冠上达极显著水平, 并且显著受到乙烯利、1-MCP 和冷藏处理的调控 (表2)。上述结果表明, 细胞内含物质中淀粉和蔗糖含量的变化对苹果果实软化的影响较大, 且与果实品种的耐贮性密切相关, 对低温和乙烯的响应也因果实耐贮性的不同存在显著差异。

2.3 蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 和蔗糖合成酶 (SS) 活性变化

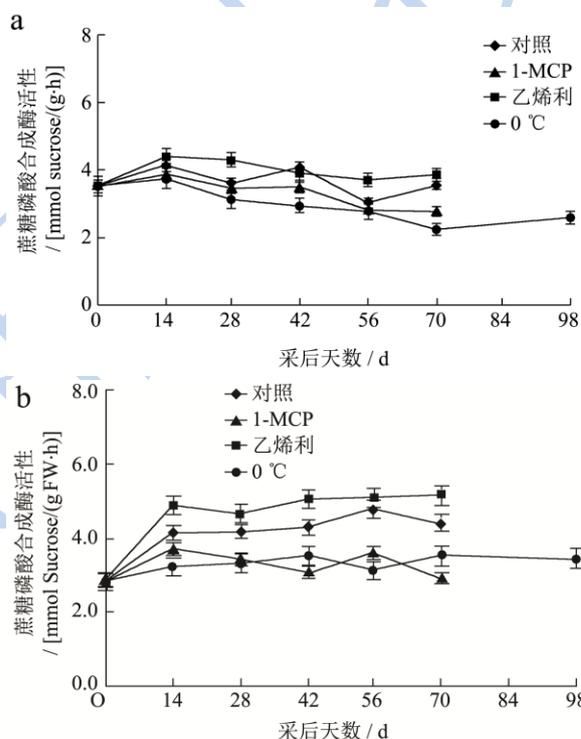


图6 采后调控对苹果果实蔗糖磷酸合成酶活性变化的影响

Fig.6 Effect of post-harvest regulation on variation in SPS activity in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

富士果实 SPS 活性在贮藏初期略有升高后即呈下降趋势, 乙烯利处理一定程度促进了 SPS 活性的升高, 1-MCP 处理则降低了 SPS 活性, 但均与对照差异不显著; 0 °C 冷藏果实的 SPS 活性始终低于对照, 28 d 后与对照差异显著 (图6a)。但采后金冠果实 SPS 活性显著升高, 贮藏 14 d 出现活性高峰, 贮藏后期其活性又趋于升高。乙烯利处理未显著促进金冠果实 SPS 活性表达, 而 1-MCP 则显著降低了 SPS 活性。0 °C 冷藏抑制了 SPS 活性的增加, 显著低于对照 (图6b)。富士果实 SS 活性略有上升, 1-MCP 处理和 0 °C 低温均

不同程度抑制了SS活性,而乙烯利处理未促进SS活性的增加(图7a)。采后金冠果实SS活性渐趋升高,贮藏后期有所下降,1-MCP处理和冷藏均显著抑制SS活性增加,乙烯利虽一定程度促进SS活性,但随贮藏时间延长与对照差异缩小(图7b)。相关性分析表明,富士果实SPS和SS AI活性变化与硬度变化的相关性不显著;而金冠果实SPS活性变化与硬度显著相关,乙烯利处理增加了其相关度,1-MCP处理和冷藏降低了二者的相关度,SS与其硬度变化的相关性不显著(表3),表明SPS与果实软化和品种的贮藏特性较强的相关性,SPS是蔗糖合成的重要酶,进一步表明蔗糖代谢在果实软化中的重要作用。

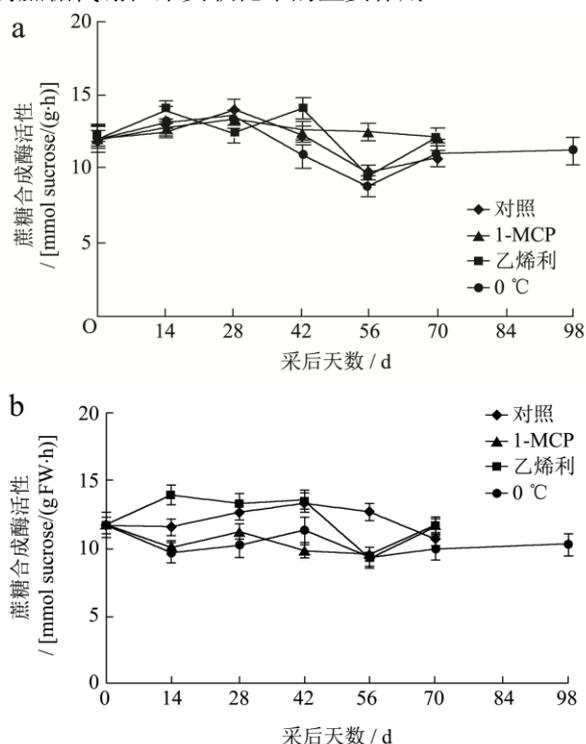


图7 采后调控对苹果果实蔗糖合成酶活性变化的影响

Fig.7 Effect of post-harvest regulation on variation in SS activity in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

2.4 酸性转化酶 (AI) 和淀粉酶 (AM) 活性变化

采后富士果实 AI 活性在贮藏前期保持不变,贮藏 56 d 其活性渐趋下降,1-MCP 和低温处理未能显著影响其活性变化,乙烯利处理对其活性有所促进,但与对照差异不显著(图 8a)。金冠果实 AI 活性变化与富士相似,乙烯和低温处理对其果实 AI 活性的影响与富士上的表现相似(图 8b)。而采后富士和金冠果实 AM 均表现较高活性,且随果实贮藏期延长不断升

高,对乙烯和冷藏表现出相似的应答反应,但两品种间存在一定差异。即金冠果实 AM 活性与富士相比表现出较显著的上升趋势,乙烯利处理也较显著地促进了金冠果实 AM 活性的增加,而在富士上的促进作用要低得多,1-MCP 处理和冷藏均对苹果果实 AM 活性具有较强的抑制作用,但在金冠果实上仍表现一定的增加趋势,与其淀粉的降解特性相一致(图 9)。相关性分析表明,淀粉酶活性变化与硬度的相关性最强,在金冠上达极显著的负相关水平,富士上也呈显著的负相关性,乙烯利处理使其负相关性增强,1-MCP 处理和冷藏均降低了二者的相关性,而 AI 活性变化与硬度的相关性不强(表 3),表明淀粉酶参与了苹果果实软化,并与果实的耐贮特性密切相关。

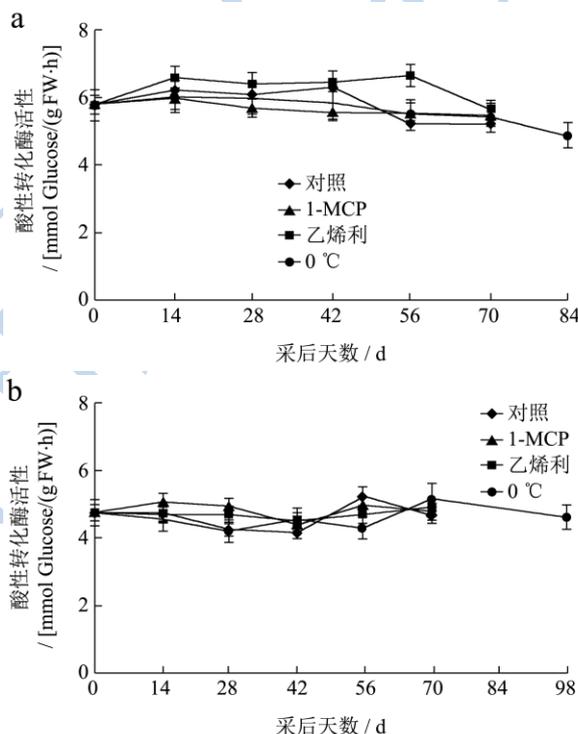


图8 采后调控对苹果果实酸性转化酶活性变化的影响

Fig.8 Effect of post-harvest regulation on variation in AI activity in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

2.5 苹果果实 MdSPS 和 MdAM 基因表达变化

采后金冠和富士果实 *MdSPS* 基因均有较强的表达,乙烯利处理主要促进了贮藏后期富士果实 *MdSPS* 基因的表达,而在金冠果实上的促进时期显著早于富士,1-MCP 处理则完全抑制了两品种果实 *MdSPS* 基因表达量的增加,在整个贮藏过程中二者的 *MdSPS* 基因几乎不表达。0 °C 低温虽也抑制了苹果果实 *MdSPS* 基因的表达,但未能完全抑制,尤其在金冠果实贮藏后期 *MdSPS* 基因又表现出明显的增加趋势(图

10)。从图 11 可知,富士和金冠果实 *MdAM* 基因的表达差异显著,均不同程度受到乙烯和低温的调控。乙烯利处理对富士果实 *MdAM* 基因表达水平的促进主要表现在贮藏后期,而这种效应在金冠贮藏前期显著,且金冠果实 *MdAM* 基因的表达量一直增加,而富士贮藏后期 *MdAM* 基因的表达水平不再升高。

1-MCP 处理极显著抑制了富士果实 *MdAM* 基因

的表达水平,而对金冠果实 *MdAM* 基因表达的抑制作用主要表现在贮藏前期,贮藏后期 1-MCP 处理的抑制效果减弱,金冠果实 *MdAM* 基因表达水平呈现升高趋势。冷藏后富士果实 *MdAM* 基因表达量没有明显地增加趋势,而金冠果实 *MdAM* 基因表达虽受到显著抑制抑制效果,但到贮藏后期也表现增加趋势。

表 2 苹果果实可溶性糖变化与硬度的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between variation in soluble sugar content and firmness of apple fruits

品种	处理	蔗糖	果糖	葡萄糖	淀粉
富士 Fuji	对照 Control	-0.536*	0.298	0.063	0.859*
	1-MCP	0.647	0.011	0.467	0.674
	乙烯利 Ethephon	-0.674*	-0.899**	0.707	0.889**
	0℃	-0.468	-0.547	-0.445	0.082
金冠 Golden Delicious	对照 Control	-0.748**	0.304	0.383	0.969**
	1-MCP	-0.418	0.551	0.538	0.544
	乙烯利 Ethephon	-0.834**	0.017	0.576	0.943**
	0℃	0.087	-0.438	0.321	0.311

注: *显著线性相关, **极显著线性相关。下同。

表 3 苹果果实糖代谢相关酶活性变化与硬度的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between variation in sugar-related enzyme activity and firmness in apple fruits

品种	处理	蔗糖磷酸合成酶 SPS	蔗糖合成酶 SS	酸性转化酶 AI	淀粉酶 AM
富士 Fuji	对照 Control	0.161	0.356	0.328	-0.773*
	1-MCP	0.826**	0.451	0.506	-0.038
	乙烯利 Ethephon	-0.251	0.143	-0.281	-0.842**
	0℃	0.669*	0.205	0.742	0.566
金冠 Golden Delicious	对照 Control	-0.732*	-0.098	0.085	-0.870**
	1-MCP	-0.310	0.300	-0.209	-0.696*
	乙烯利 Ethephon	-0.911**	0.177	-0.155	-0.875**
	0℃	-0.468	0.792	-0.222	-0.602*

3 结论

3.1 苹果果实淀粉含量及 AM 活性变化与硬度变化和品种贮藏特性存在显著的相关性,且显著受乙烯和低温的影响。随着金冠果实软化,淀粉含量快速下降,淀粉酶活性上升,并强烈受到乙烯和低温的调控,它们与硬度变化的相关性亦显著受到乙烯和低温的调节,而富士果实淀粉含量低且降低缓慢,未显著受到乙烯利和 1-MCP 处理的影响,0℃低温则有效抑制了其淀粉降解,表明淀粉降解参与了苹果果实软化,并与果实的耐贮性相关。而且,采后金冠果实 *MdAM* 基因表达量迅速增加,显著高于富士,乙烯利和 1-MCP 处理对金冠贮藏前期果实 *MdAM* 基因表达的调控效果强于富士,0℃低温显著抑制了两品种果实 *MdAM*

基因的表达,进一步表明淀粉降解与果实软化和品种贮藏特性的密切关系。

3.2 可溶性糖中,蔗糖含量变化及其受乙烯和低温的调节在品种间差异显著。金冠果实 SPS 活性随后熟软化显著增加,与硬度极显著相关且强于 SS 与 AI 与硬度的相关性,而富士果实 SPS 未见明显增加的趋势,乙烯利处理对金冠果实 SPS 活性及 *MdSPS* 基因表达的促进作用强于富士,1-MCP 处理显著抑制了金冠果实 SPS 活性,且完全抑制了 *MdSPS* 基因的表达,表明果实蔗糖的积累和 SPS 对糖代谢的调节作用与果实软化和品种的贮藏特性密切相关。这进一步表明果实可溶性糖一方面为采后呼吸代谢消耗等提供能量和底物,另一方面通过维持果实细胞的膨压和细胞壁的张力来参与果实软化进程^[12]。

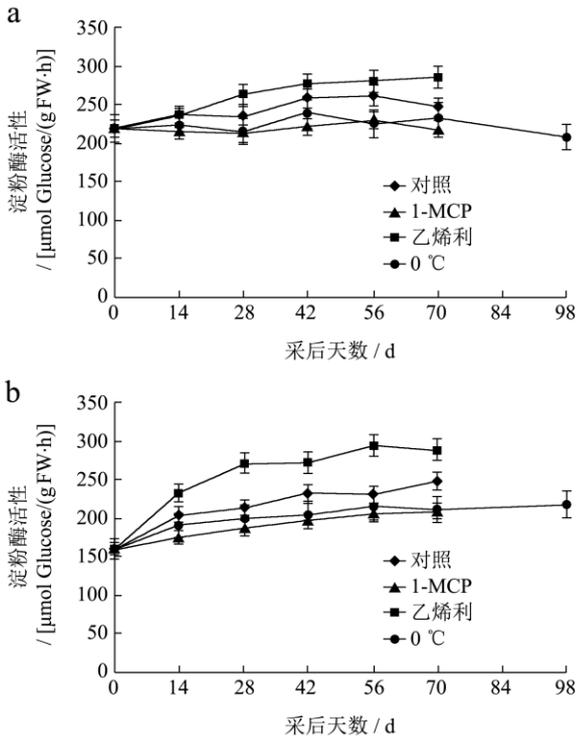


图9 采后调控对苹果果实淀粉酶活性变化的影响

Fig.9 Effect of post-harvest regulation on variation in AM activity in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

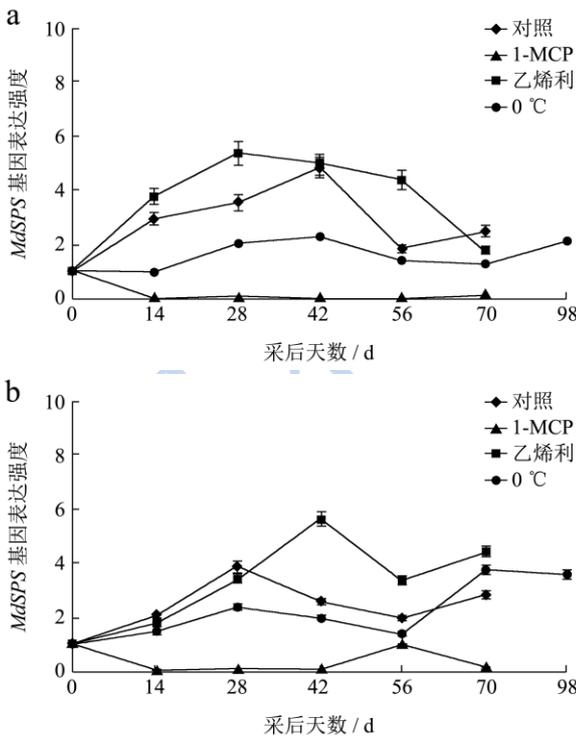


图10 采后调控处理对苹果果实 *MdSPS* 基因表达的影响

Fig.10 Effect of post-harvest regulation on *MdSPS* gene expression in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

3.3 在香蕉^[13,14]、荔枝^[15]和猕猴桃^[16]果实上的研究发现,果实快速软化伴随 SPS 活性增加和 SPS mRNA 水平的上升,蔗糖积累,但果实软化后期 SPS 活性降低,蔗糖含量下降,认为 SPS 通过调节采后果实糖组分变化而参与果实的后熟软化,这与本研究在苹果上的结论相似,但由于果实软化类型的差异,其软化的主导因子不同,所以糖代谢在苹果果实软化中的作用和地位尚需进一步探讨。

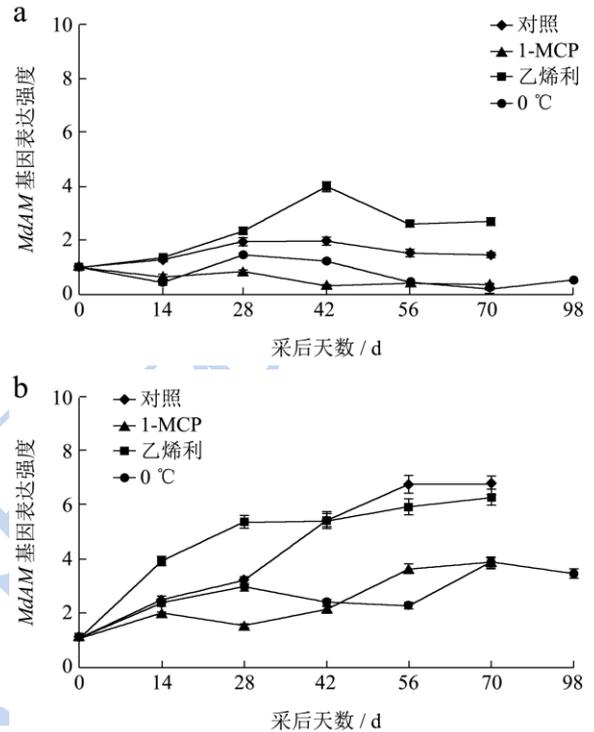


图11 采后调控对苹果果实 *MdAM* 基因表达的影响

Fig.11 Effect of post-harvest regulation on *MdAM* gene expression in apple fruits

注: a: 富士, b: 金冠。

3.4 低温下,两品种果实糖含量及酶活性波动较小, *MdSPS* 基因表达显著受抑,果实内含物质代谢消耗缓慢而维持恒定生理状态,这表明低温下果实可通过维持糖的稳定来平衡细胞渗透压以实现自我保护^[17,18],从而实现果实贮藏保鲜期的有效延长。

参考文献

[1] 李琛,刘颖,翁桢,等. 贮运环境对葡萄品质的影响[J]. 现代食品科技, 2013, 29(2): 230-235
LI Chen, LIU Ying, WENG Zhen, et al. The Influence of Storage and Transport Environment on Grape Quality[J]. Modern Food Science and Technology 2013, 29(2): 230-235
[2] Wei J, Qi X, Guan J, et al. Effect of cold storage and 1-MCP treatment on postharvest changes of fruit quality and cell wall

- metabolism in sweet cherry [J]. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2011, 9(3&4):118-122
- [3] Dong L, Lurie S, Zhou H W. Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal' plums [J]. Postharvest Biol. Technol., 2002, 24: 135-145
- [4] Amornputti S, Ketsaa S, Doorn W G V. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on storage life of durian fruit [J]. Postharvest Biol. Technol., 2014, 97: 111-114
- [5] Piriavinit P, Ketsa S, Doorn, W G. 1-MCP extends the storage and shelf-life of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit [J]. Postharvest Biol. Technol., 2011 61:15-20
- [6] Yang X T, Song J, Campbell-Palmer L. Effect of ethylene and 1-MCP on expression of genes involved in ethylene biosynthesis and perception during ripening of apple fruit [J]. Postharvest Biol. Technol., 2013, 78: 55-66
- [7] 刘忆冬,童军茂.中华寿桃采后生理的研究[J].现代食品科技,2006,22(4):61-63
LIU Yi-dong, DONG Jun-mao. Physiology of Postharvest Zhonghuashoutao Peach in Different Storage Environment [J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(4): 61-63
- [8] 赵智中,张上隆,徐昌杰,等.蔗糖代谢相关酶在温州蜜柑果实糖积累中的作用[J].园艺学报,2001,28(2):118-122
ZHAO Zhi-zhong, ZHANG Shang-long, XU Chang-jie, et al. Roles of sucrose-metabolizing enzymes in accumulation of sugars in satsuma mandarin fruit [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 28(2): 118-122
- [9] Merlo L, Passera C. Changes in carbohydrate and enzyme levels during development of leaves of *Prunus persica*, a sorbitol synthesizing species [J]. Plant Physiol., 1991, 83: 621-626
- [10] Itai A, Tanahashi T. Inhibition of sucrose loss during cold storage in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) by 1-MCP [J]. Postharvest Biol. Technol., 2008, 48 (3): 355-363
- [11] Wei J, Ma F, Shi S, et al. Changes and the postharvest regulation in the activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit [J]. Postharvest Biol. Technol., 2010, 56, 147-154
- [12] Deng L, Pan X, Chen L, et al. Effects of preharvest nitric oxide treatment on ethylene biosynthesis and soluble sugars metabolism in 'Golden Delicious' apples [J]. Postharvest Biol. Technol., 2013, 84: 9-15
- [13] 李雯,邵远志,庄军平等.蔗糖磷酸合成酶与香蕉果实成熟、衰老的关系[J].园艺学报,2006,33(5):1087-1089
LI Wen, SHAO Zhi-yuan, ZHUANG Jun-ping, et al. Relationships between the Sucrose Phosphate Synthase and Ripening, Senescence of Banana Fruits [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2006, 33(5): 1087-1089
- [14] Agopian R G D, Peroni -Okita F H G, Soares C A, et al. Low temperature induced changes in activity and protein levels of the enzymes associated to conversion of starch to sucrose in banana fruit [J]. Postharvest Biol. Technol., 2011, 62 (2): 133-140
- [15] 王惠聪,黄辉白,黄旭明.荔枝果实的糖积累与相关酶活性[J].园艺学报,2003,30(1):1-5
WANG Hui-cong, HUANG Hui-bai, HUANG Xu-ming. Sugar Accumulation and Related Enzyme Activities in the Litchi Fruit of 'Nuomici' and 'Feizixiao' [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2003, 30(1): 1-5
- [16] 张玉,陈昆松,张上隆,等.猕猴桃果实采后成熟过程中糖代谢及其调节[J].植物生理与分子生物学报,2004,30(3): 317-324
ZHANG Yu, CHEN Kun-song, ZHANG Shang-long, et al. Sugar Metabolism and its Regulation in Postharvest Ripening Kiwifruit [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2004, 30(3): 317-324
- [17] Wang K, Shao X, Gong Y, et al. The metabolism of soluble carbohydrates related to chilling injury in peach fruit exposed to cold stress [J]. Postharvest Biol. Technol., 2013, 86: 53-61
- [18] Shao X, Zhu Y, Cao S, et al. Soluble sugar content and metabolism as related to the heat-induced chilling tolerance of loquat fruit during cold storage [J]. Food and Bioprocess Technol., 2013, 6 (12): 3490-3498