

# 采前钙处理对黄金梨果顶硬化果实贮藏特性及 *PpEXPA2* 基因表达的影响

王玉玲, 路贵龙, 张新富, 王然, 杨绍兰

(青岛市园艺植物遗传改良与育种重点实验室, 青岛农业大学园艺学院, 山东青岛 266109)

**摘要:** 为探究采前钙处理对黄金梨果顶硬化果实的影响, 以黄金梨正常果实和果顶硬化果实为试材, 对部分果顶硬化果实进行采前喷钙处理, 分别测定果实的贮藏特性和 *PpEXPA2* 基因表达量等指标。结果表明: 2℃贮藏期间, 正常果实、CaCl<sub>2</sub>处理果实及果顶硬化果实萼端的硬度、粘性、弹性、内聚性和咀嚼性均呈先升高后降低趋势, CaCl<sub>2</sub>处理果实萼端及柄端的硬度和咀嚼性均明显低于果顶硬化果实; 正常果实失重率最高, 其次为 CaCl<sub>2</sub>处理果实; CaCl<sub>2</sub>处理降低了果顶硬化果实的腐烂率, 并抑制了果实的呼吸强度。贮藏 180 d, CaCl<sub>2</sub>处理果实的腐烂率和呼吸强度分别较果顶硬化果实降低了 18.87% 和 59.70%; 采收初期, *PpEXPA2* 基因在果顶硬化果实中的表达明显高于正常果实和果顶硬化果实, 随后下降, 而正常果实和 CaCl<sub>2</sub>处理果实中 *PpEXPA2* 基因的相对表达量均随贮藏时间逐渐升高, 采前 CaCl<sub>2</sub>处理抑制了该基因的表达。

**关键词:** 黄金梨; 果顶硬化; CaCl<sub>2</sub>处理; 贮藏特性; *PpEXPA2*

文章编号: 1673-9078(2016)2-53-59

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.2.009

## Effects of Pre-harvest Calcium Treatment on the Storage Characteristics of Hard-end Whangkeumbae Pear Fruits and the Expression of *PpEXPA2*

WANG Yu-ling, LU Gui-long, ZHANG Xin-fu, WANG Ran, YANG Shao-lan

(Qingdao Key Laboratory of Genetic Improvement and Breeding in Horticultural Plants, College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

**Abstract:** In order to investigate the influence of pre-harvest calcium treatment on the hard-end Whangkeumbae (*Pyrus pyrifolia* Nakai.) pear fruits, normal fruits and hard-end fruits were used as test materials. Some of the hard-end pear fruits were sprayed with CaCl<sub>2</sub> solutions before harvest, and the fruit storage characteristics, gene expression level of *PpEXPA2*, and other indicators were determined. The results showed that during storage at 2℃, the firmness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, and chewiness of the calyx-end area of normal fruit, CaCl<sub>2</sub>-treated fruit and hard-end fruit showed a downward trend after the initial increase. The firmness and chewiness in both stem end and calyx end areas of CaCl<sub>2</sub>-treated fruit were lower than those of hard-end fruit. The weight loss rate was highest in normal fruit, followed by in CaCl<sub>2</sub>-treated fruit. CaCl<sub>2</sub> treatment reduced the rot rate of hard-end fruit and inhibited the respiration rate of the fruits. After 180 days of storage, the rot rate and respiration rate of CaCl<sub>2</sub>-treated fruit were decreased by 18.87% and 59.70%, respectively, compared with hard-end fruit. During the early stage of the postharvest period, the relative expression level of *PpEXPA2* in hard-end fruit was significantly higher than those in normal fruit and CaCl<sub>2</sub>-treated fruit and was then decreased. The relative expression levels of *PpEXPA2* in normal fruit and CaCl<sub>2</sub>-treated fruit gradually increased during the storage period. Pre-harvest CaCl<sub>2</sub> treatment may inhibit the gene expression of *PpEXPA2*.

**Key words:** Whangkeumbae pear; hard-end; CaCl<sub>2</sub> treatment; storage characteristics; *PpEXPA2*

收稿日期: 2015-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201608); 国家现代农业 (梨) 产业技术体系建设专项 (nycyt-x-29-06); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (BS2010NY009); 青岛市科技计划基础研究项目 (12-1-4-5-(8)-jch); 青岛农业大学高层次人才启动基金 (630803)

作者简介: 王玉玲 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为果实采后生理与分子生物学。

通讯作者: 杨绍兰 (1978-), 女, 博士, 副教授

黄金梨 (*Pyrus pyrifolia* Nakai. Whangkeumbae) 属砂梨系统, 由韩国园艺实验场罗州支场以‘新高’和‘二十世纪’杂交育成<sup>[1]</sup>, 我国于 20 世纪 90 年代中期引入。黄金梨成熟时果皮呈黄绿色, 贮藏后变为金黄色, 果皮极洁净, 果肉细嫩多汁, 石细胞少, 果心小, 味清甜而具香气, 深受消费者和种植者欢迎<sup>[2]</sup>。然而, 近年来的栽培中发现黄金梨易发生果顶硬化, 表现为果实果顶处硬化, 果皮变厚, 果肉细胞木质化, 严重

影响其外观品质和食用品质,大大降低了经济效益,也在一定程度上制约了黄金梨产业的发展<sup>[3]</sup>。

黄金梨果顶硬化发病初期果实萼洼及其周围果皮呈浅绿色或铜锈色,萼端尖突,果皮变厚,果肉变硬,且有宿萼现象,发病较重时果实萼端坚硬,细胞呈木栓化坏死<sup>[3]</sup>。宫美英等<sup>[4]</sup>发现使用膨果素处理及树体缺硼、钙、硅等中、微量元素等均能加重果顶硬化的发生。诸多研究也发现水分胁迫和钙的缺失可能是果顶硬化发生的原因<sup>[2-8]</sup>, Raese 等<sup>[9]</sup>研究发现喷施  $\text{CaCl}_2$  溶液能增加‘Anjou’梨中的钙含量,并且对控制‘Anjou’梨的栓斑病和果顶硬化等有明显作用。Lu 等<sup>[10]</sup>的试验发现,果顶硬化果实中木质素及石细胞的含量均高于正常果,尤其是在果皮部位,有大量木质素沉积。芮怀瑾<sup>[11]</sup>研究发现,1.0%  $\text{CaCl}_2$  采后处理可显著抑制‘解放钟’枇杷果实硬度的升高,减轻果实木质化症状。另外,采前喷钙可以抑制鸭梨黑心病<sup>[12]</sup>、库尔勒香梨黑心病<sup>[13]</sup>、顶腐病<sup>[14]</sup>、苹果苦痘病<sup>[15]</sup>、樱桃裂果病<sup>[16]</sup>等的发生率,采后浸钙处理可以较好地保持‘皇冠’梨<sup>[17]</sup>、桃<sup>[18]</sup>、草莓<sup>[19]</sup>等的贮藏品质,延缓果实衰老进程。Expansin 为一种细胞壁松弛蛋白,其在果实成熟衰老中具有重要作用。Yang 等<sup>[20]</sup>研究发现枇杷果实中的 *EjEXPA1* 与果实的冷害木质化密切相关,我们前期研究认为, *PpEXPA2* 参与了黄金梨果实的采后软化进程<sup>[21]</sup>,但该基因在黄金梨果顶硬化果实中的表达调控未见报道。

本研究以黄金梨果实为试材,根据果顶硬化的发生规律,研究采前  $\text{CaCl}_2$  处理对黄金梨果顶硬化的防治效果及其贮藏特性的影响,并探究 *PpEXPA2* 基因在果顶硬化果实中的表达模式及调控机制,为改善黄金梨果实贮藏品质和防治果顶硬化的发生提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料取自山东省莱阳市照旺庄镇东五龙村,分别选取果顶硬化发生率低(11.49%)和高(81.25%)的两片园区开展试验。选取发病率高的园区内的10棵黄金梨果树,分别于花后30 d、50 d和70 d喷施2%  $\text{CaCl}_2$  溶液。2014年8月16日于发病率低的园区内采收黄金梨正常果实,于发病率高的园区内采收  $\text{CaCl}_2$  处理和果顶硬化果实,当天运抵实验室,选取大小、成熟度一致且无机械损伤、病虫害的果实,  $4 \pm 0.5$  °C 下预冷24 h后于温度为  $2 \pm 0.5$  °C、湿度为90~95%的冷库中进行贮藏试验,分别于贮藏后0 d、30 d、60 d、

90 d、120 d、150 d和180 d取样,每次取10个果,去除果皮、果核及胴部,将萼端和柄端果肉切碎,各自混匀后用液氮冷冻处理,于-70 °C超低温冰箱中保存备用。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 TPA 质构分析

参照路贵龙等<sup>[22]</sup>方法,采用CT3-4500质构仪(Brookfield,美国)检测果实萼端和柄端果肉的硬度、弹性、粘性、内聚性、咀嚼性等质构特性,测头直径为2.0 mm,深度为10 mm,测试速度为0.5 mm/s,测试时去除果皮,共测10个果,单果重复4次。

#### 1.2.2 失重率测定

称重法,共测5个果。

失重率(%)=[(采收时重量-贮藏后重量)/采收时重量]×100

#### 1.2.3 腐烂率测定

观察法。果实出现病斑即为腐烂,腐烂率(%)=(烂果数量/果实总数)×100

#### 1.2.4 呼吸强度测定

呼吸强度采用CAMBO 580 portable analyser(意大利)测定,共测5个果。呼吸强度[mg/(kg·h)]= $\text{CO}_2$  释放量(mg)/测定果实重量(kg)时间(h)

#### 1.2.5 可溶性固形物(TSS)含量测定

采用手持折光仪 ATAGO PR101(日本)测定。果实萼端去皮后取果肉,共测10个果,单果重复4次,取平均值。

#### 1.2.6 果肉总 RNA 提取及 cDNA 的合成

萼端果肉总 RNA 提取方法参照 TianGen RNAPlant Reagent(TianGen,中国)说明书操作,采用 DNase(Fermentas,立陶宛)去除 DNA 污染。第一条 cDNA 逆转录按 Revert Aid TM First Strand cDNA Synthesis(Fermentas,立陶宛)试剂盒说明书进行操作。

#### 1.2.7 Real-time PCR 分析

通过在线 Primer3.0 进行 Real-time PCR 引物设计。引物序列见表1,由上海生工生物工程股份有限公司合成。Real-time PCR 在 Real-time PCR 仪器上操作(Roche480,瑞士)。总体积20  $\mu\text{L}$ ,其中包括2  $\mu\text{L}$  cDNAs,250  $\mu\text{mol/L}$  引物,10  $\mu\text{L}$  2×SYBR Green PCR Master Mix(Roche),所用程序为94 °C退火5 min,94 °C 15 s,60 °C 1 min 40个循环。每次 PCR 设阴性对照。Actin 引物序列如表1。计算方法为  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法<sup>[23]</sup>。

#### 1.2.8 结果统计方法

采用 DPS 和 origin 进行数据分析和作图。采用

DPS 中完全随机二因素有重复试验统计分析进行显著性差异分析, 方法为新复极差法。

表 1 Real-time PCR 扩增所用引物序列

**Table 1 Sequences of the primers used for real-time PCR analyses**

基因名称	引物名称	引物序列
<i>PpEXPA2</i>	PpEXPA2SP	5'-CCGGCGGTAAAACAGTTAAA-3'
	PpEXPA2AP	5'-GTGCCAGTTAGCCACCTCAG-3'
<i>Actin</i>	ActinSP	5'-CCCAGAAGTGCTCTCCAAC-3'
	ActinAP	5'-TTGATCTCATGCTGCTTGG-3'

## 2 结果与分析

### 2.1 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理对果实外观品质的影响



图 1 采收点正常果实、果顶硬化果实及 CaCl<sub>2</sub>处理果实外观形态比较

**Fig.1 Fruit appearance of normal fruit, hard-end fruit, and CaCl<sub>2</sub>-treated fruit after picking**

由图 1 可知, 果顶硬化危害区域主要集中于果实萼端, 通过观察外观色泽发现, 病部果皮为浅绿色或铜锈色, 正常果实为均匀黄绿色, 通过比较二者外观形态发现, 病果萼端与正常果萼端相比呈锥状突出, 且有宿萼现象。采前 CaCl<sub>2</sub> 处理的果实虽然也有宿萼现象, 但整体外观与正常果实无明显差异。

### 2.2 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理对黄金梨贮藏期间质构参数的影响

硬度是评价果蔬质地品质的一个重要指标, 且果实硬度增加是果顶硬化果实的主要症状之一<sup>[10]</sup>。本研究结果显示, 果顶硬化果实萼端和柄端的硬度始终显

著高于正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实 ( $P < 0.05$ ) (图 2A), 且均呈现先上升后下降的趋势, 而正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实硬度变化不明显。果顶硬化果实于贮藏 150 d 达到最大值, 萼端硬度最大值为 75.18 kg/cm<sup>2</sup>, 柄端硬度最大值为 32.55 kg/cm<sup>2</sup>。正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实硬度最大值均出现于贮藏后 60 d, 萼端硬度分别为 14.46 kg/cm<sup>2</sup> 和 15.06 kg/cm<sup>2</sup>, 柄端为 11.12 kg/cm<sup>2</sup> 和 11.64 kg/cm<sup>2</sup>, 无显著差异 ( $p < 0.05$ )。

粘性反映了测试样品的粘着作用, 果实粘性越大, 其果肉粘着越强。贮藏期间, 正常果实、CaCl<sub>2</sub> 处理果实以及果顶硬化果实萼端粘性均呈先升高后下降趋势, 正常果实和果顶硬化果实柄端粘性亦先升高后下降, 而 CaCl<sub>2</sub> 处理果实柄端粘性无明显变化规律 (图 2B)。其中, 果顶硬化果实萼端粘性至贮藏 120 d 达到最大值 19.12 mJ, 之后骤降至 3.06 mJ, 且在贮藏 150 d 前显著高于正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实, 柄端粘性于贮藏后 60 d 达到最大值。正常、CaCl<sub>2</sub> 处理果实萼端粘性分别于贮藏后 60 d 和 90 d 出现最大值, 二者柄端粘性无显著差异 ( $p < 0.05$ )。

弹性反映了贮藏过程中果实受外力作用后恢复形变的能力。贮藏期间, 正常果实、CaCl<sub>2</sub> 处理果实以及果顶硬化果实萼端弹性呈先升高后下降趋势, 柄端弹性无显著变化 ( $P < 0.05$ )。其中, 正常果实和果顶硬化果实萼端弹性至贮藏后 60 d 达到最大值, 分别为 9.54 mm 和 9.88 mm, CaCl<sub>2</sub> 处理果实于贮藏后 90 d 出现最大值 9.40 mm (图 2C)。随贮藏时间延长三者萼端和柄端弹性均呈现下降趋势, 其原因可能是由于果实失水导致组织韧性减小, 弹性下降<sup>[24]</sup>。

贮藏期间, 正常果实、CaCl<sub>2</sub> 处理果实以及果顶硬化果实萼端和柄端内聚性均呈现先升高后下降的趋势 (图 2D)。果顶硬化果实萼端内聚性于贮藏 120d 前明显高于对照果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实, 柄端无显著差异 ( $p < 0.05$ )。

果实咀嚼性在数值上为硬度、弹性、内聚性三者乘积, 该参数综合反映了果实对咀嚼的持续抵抗性<sup>[24]</sup>。正常果实、CaCl<sub>2</sub> 处理果实以及果顶硬化果实萼端和柄端的咀嚼性均呈先升高后下降趋势 (图 2E)。

其中, 果顶硬化果实的咀嚼性始终高于二者, 并且变化趋势明显, 其萼端咀嚼性于贮藏 60 d 呈现峰值, 柄端咀嚼性于贮藏 90 d 呈现峰值, 这与弹性的变化趋势一致。高雪等<sup>[24]</sup>认为咀嚼性增加可能是弹性增加和木质化的结果。

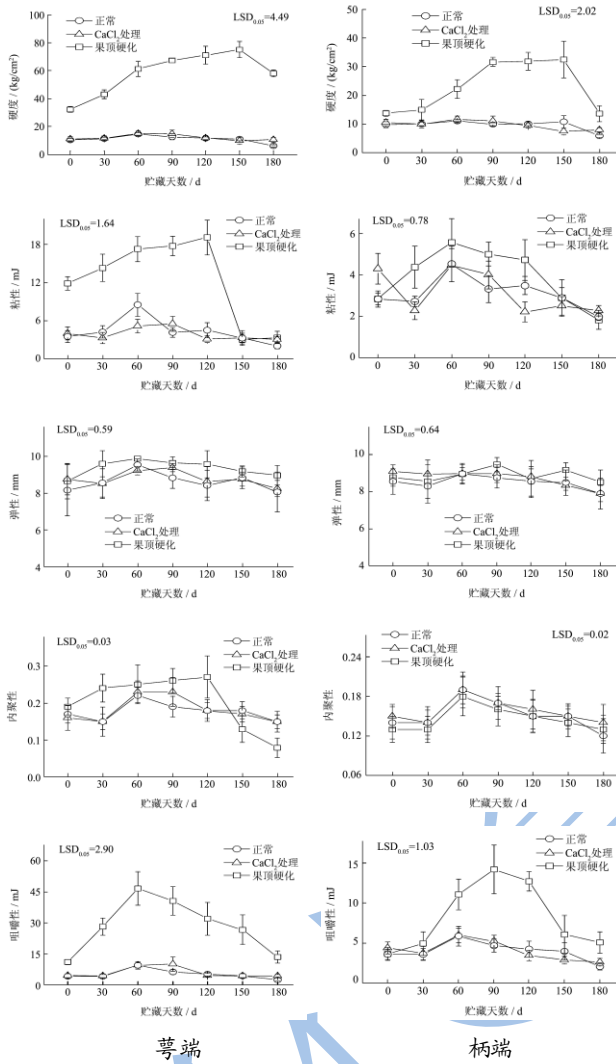


图2 CaCl<sub>2</sub>处理对果实质构参数的影响  
Fig.2 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on the fruit texture parameters

### 2.3 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理对黄金梨贮藏期间失重率的影响

由图 3 可知, 贮藏过程中黄金梨失重率呈上升趋势, 果顶硬化果实失重率最低, CaCl<sub>2</sub> 处理果实次之。贮藏至 180 d 时, 正常、CaCl<sub>2</sub> 处理及果顶硬化果实的失重率分别为 15.21%、13.58% 和 12.31%。

### 2.4 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理对黄金梨贮藏期间腐烂率的影响

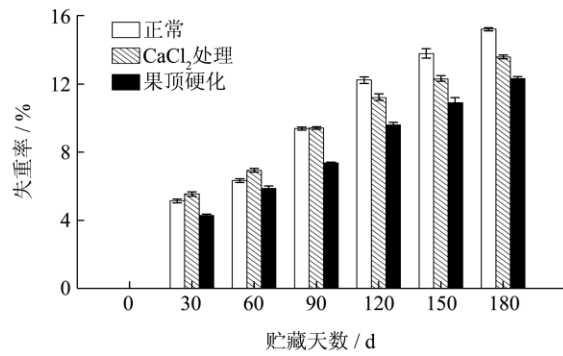


图 3 CaCl<sub>2</sub>处理对果实失重率的影响

Fig.3 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on the fruit weight loss rate

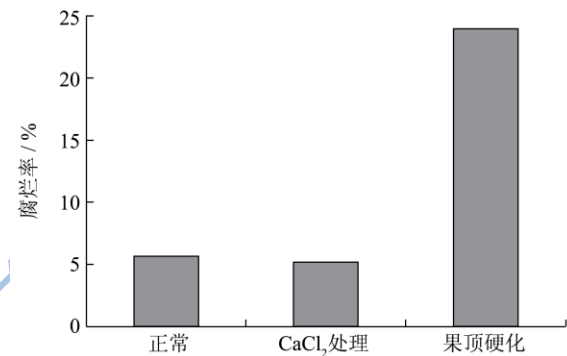


图 4 CaCl<sub>2</sub>处理对果实腐烂率的影响

Fig.4 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on the fruit rot rate

贮藏至 180 d, 正常果实、CaCl<sub>2</sub> 处理果实以及果顶硬化果实的腐烂率分别为 5.63%、5.13% 和 24.00% (图 4), 果顶硬化果实的腐烂率较正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实高 4.5 倍左右, 说明其贮藏性较差, 且 CaCl<sub>2</sub> 处理明显降低了果顶硬化果实贮藏期间的腐烂率。

### 2.5 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理对黄金梨贮藏期间呼吸强度的影响

贮藏期间, 黄金梨果实呼吸强度均呈现先下降后升高趋势, 正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实的呼吸强度于贮藏后期逐渐下降。果顶硬化果实呼吸强度于贮藏 30 d 后持续升高, 于贮藏 180 d 达到最大值 15.12 (图 5), CaCl<sub>2</sub> 处理果实的呼吸强度明显低于果顶硬化果实。果顶硬化症的发生可能由于缺钙和水分胁迫<sup>[4,10]</sup>, 从而促进了呼吸代谢紊乱, 进而加快了果实的衰老进程。采前 CaCl<sub>2</sub> 处理能够较好地维持细胞膜的稳定性, 抑制果实生理生化代谢的紊乱, 从而延缓了呼吸速率的升高。

### 2.6 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理对黄金梨贮藏期间 TSS 含量的影响

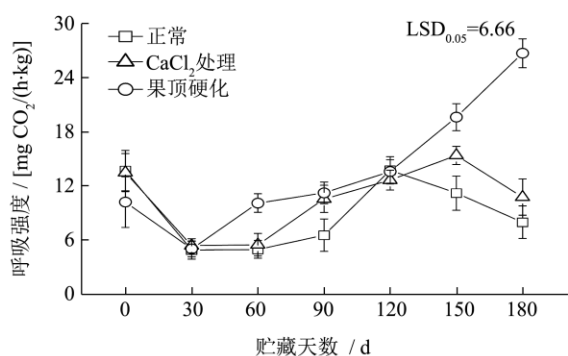


图5 CaCl<sub>2</sub>处理对果实呼吸强度的影响

Fig.5 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on the fruit respiration rate

贮藏期间, 果顶硬化果实中TSS含量无明显变化(图6), 而CaCl<sub>2</sub>处理果实中TSS含量于贮藏60 d前呈下降趋势, 其后无明显变化, 正常果实中TSS含量在贮藏30 d达最大值14.47%, 其后下降并于贮藏60 d后无明显变化。三者中可溶性固形物含量在贮藏120 d后均无显著差异 ( $p < 0.05$ )。

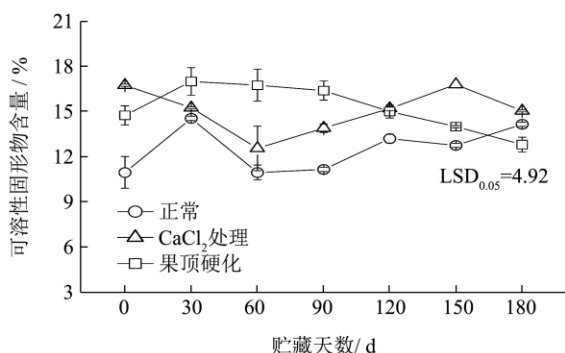


图6 CaCl<sub>2</sub>处理对果实可溶性固形物含量的影响

Fig.6 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on the fruit TSS content

## 2.7 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理对黄金梨贮藏期间

### *PpEXPA2* 基因相对表达量的影响

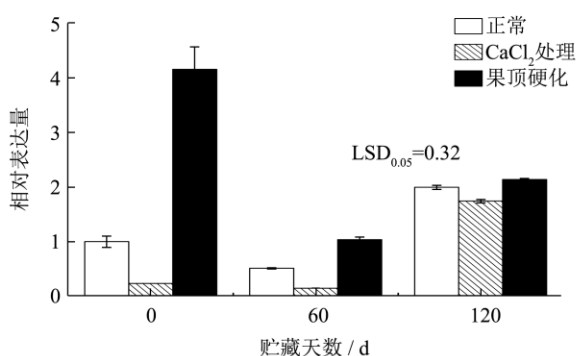


图8 CaCl<sub>2</sub>处理对 *PpEXPA2*基因相对表达量的影响

Fig.8 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on the relative expression level of *PpEXPA2* gene

果顶硬化果实中 *PpEXPA2* 基因相对表达量在采

收点显著高于正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实 ( $P < 0.05$ ), 并呈先下降后升高的趋势。而正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实中 *PpEXPA2* 基因相对表达量在贮藏过程中呈上升趋势, 且采前 CaCl<sub>2</sub> 处理果实中 *PpEXPA2* 基因表达量明显低于二者, 说明采前 CaCl<sub>2</sub> 处理抑制了果实中 *PpEXPA2* 的基因表达。贮藏至 120 d, 三者表达量无显著差异。

## 3 讨论

钙是调节植物体内代谢系统的重要因子之一, 果实缺钙易导致采前或贮藏期间的生理病害, 但通过适当的钙处理可以在不同程度上减轻或避免此类生理病害的发生。幼果期喷钙处理是提高果实钙素水平及控制生理病害的关键<sup>[25]</sup>。另外, 诸多研究表明, 钙可以有效保持果实硬度、抑制果实呼吸, 减少乙烯产生, 提高果实贮藏品质, 延长货架寿命<sup>[26-27]</sup>。

黄金梨采收于高温多雨季节, 属呼吸跃变型果实, 具有明显的呼吸高峰, 因此果实容易腐烂<sup>[28]</sup>。本研究结果显示, CaCl<sub>2</sub> 处理果实的腐烂率均低于正常果实和果顶硬化果实, 表明采前钙处理降低了黄金梨果实贮藏过程中的腐烂率。周绪宝等<sup>[29]</sup>、Goutam 等<sup>[30]</sup>在草莓和番石榴上也得到了相同结果, 前者发现在草莓发育阶段喷施 CaCl<sub>2</sub> 溶液可提高草莓的贮藏性和好果率, 后者研究表明, 在番石榴转色期喷施 1% Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 溶液能够有效地减少果实冷藏期间的腐烂率。另外, CaCl<sub>2</sub> 处理果实的呼吸强度在贮藏后期低于果顶硬化果实, 呼吸强度升高导致衰老进程加快, 贮藏期缩短, 因此, 采前 CaCl<sub>2</sub> 处理能够较好地保持果实的贮藏品质。但 CaCl<sub>2</sub> 处理对果顶硬化果实中可溶性固形物含量无显著影响, 且果顶硬化果实中可溶性固形物含量在贮藏 120 d 前高于正常果实。这可能是由于果顶硬化果实的细胞于发育阶段过早停止生长, 出现木质化导致糖分等无法运输而造成的积累有关<sup>[31]</sup>。果实失重率是衡量果实商品价值和贮藏效果的另一重要指标, 贮藏过程中果实失重主要是由于失水造成的, 受自身角质层厚薄、胞间隙大小的影响, 并且与角质层中是否有蜡质层及其厚薄有关。本研究发现, 采前钙处理对果顶硬化果实的失重率亦明显影响, 而果顶硬化果实的角质层较正常果实厚<sup>[4]</sup>, 在一定程度上抑制了水分蒸发, 可能是其失重率低的原因之一。

贮藏期间, 果顶硬化果实的硬度和咀嚼性始终显著高于正常果实和 CaCl<sub>2</sub> 处理果实, 其可能与果顶硬化果实果皮增厚及木质素积累和石细胞数量增加有关<sup>[10]</sup>, 并且采前 CaCl<sub>2</sub> 处理显著抑制了果顶硬化果实贮藏期间硬度的增加, 这与 Lu 等<sup>[10]</sup>研究结果一致, 其

认为采前  $\text{CaCl}_2$  处理可能通过抑制木质素相关酶活性,降低木质素含量从而延缓果顶硬化果实硬度的升高。*Expansin* 为一种细胞壁松弛蛋白,作用于植物细胞生长、细胞壁松弛、花粉管渗透和叶原基生长等生长发育过程<sup>[32]</sup>,并且 *Expansin* 与果实成熟软化密切相关<sup>[33-34]</sup>。另外, *Expansin* 可能参与了木质化发生过程。相关研究发现, *Expansin* 与次生细胞壁木质化有关<sup>[35]</sup>, Gray 等<sup>[36]</sup>在白杨次生木质部中也发现了多种 *EXPA* 基因。Im 等<sup>[37]</sup>指出,百日菊中 *Ze-EXPI*, *Ze-EXP2* 和 *Ze-EXP3* 是木质细胞特异表达的基因,可能在木质细胞分化过程的初生细胞壁侵入生长中起作用;而 *Ze-EXP4*, *Ze-EXP5* 则可能包括在百日菊木质部发生过程中,其表达存在明显的目标胞壁定位现象<sup>[38]</sup>。本试验通过分析 *PpEXPA2* 在黄金梨贮藏期的表达模式发现, *PpEXPA2* 在采收初期的果顶硬化果实中表达量明显高于正常果实和  $\text{CaCl}_2$  处理果实, Lu 等<sup>[10]</sup>研究结果显示,果顶硬化果实在贮藏期间的木质素含量明显高于正常果实和  $\text{CaCl}_2$  处理果实,因此, *PpEXPA2* 基因可能与果顶硬化果实的木质素积累有关。Yang 等<sup>[20]</sup>在枇杷果实中也发现 *Ej-EXPA1* 与果实贮藏期间的冷害木质化密切相关。另外,剥皮变白的木质化发生也与 *ZcExp* 基因表达的增加有关<sup>[38]</sup>。Jones 等<sup>[35]</sup>提出, *Expansin* 促进了细胞壁的松弛,从而使木质素合成相关酶更易与底物结合,导致了木质素的转移和积累。因此, *PpEXPA2* 可能促进了黄金梨果顶硬化发生中的木质素积累,而采前  $\text{CaCl}_2$  处理抑制了果顶硬化中 *PpEXPA2* 的基因表达,从而减轻了该病症的发生。

#### 4 结论

本研究结果表明,采前  $\text{CaCl}_2$  处理对黄金梨果顶硬化症具有良好的防治效果,显著抑制了果实果顶硬化现象的发生,较好地保持了果实质地特性和外观品质,并且减少了果实的腐烂率,提高了果实的贮藏品质。通过研究 *PpEXPA2* 基因的表达模式发现,该基因可能参与了黄金梨果顶硬化果实的木质素积累过程,与其病症的发生密切相关,而采前钙处理能够显著抑制该基因的表达,从而抑制黄金梨果实果顶硬化的发生。

#### 参考文献

- [1] 沈向,张继祥.黄金梨栽培研究进展[J].现代农业科技,2009,4:24-26  
SHEN Xiang, ZHANG Ji-xiang. Research progress of 'Whangkeumbae' pear cultivation [J]. Modern Agriculture Science and Technology, 2009, 4: 24-26
- [2] 王文辉,王志华,佟伟,等.1-MCP 处理对黄金梨采后生理及保鲜效果的影响[J].保鲜与加工,2009,1:30-34  
WANG Wen-hui, WANG Zhi-hua, TONG Wei, et al. Effects of 1-MCP application on postharvest physiology and fresh-keeping of 'Whangkeumbae' pear fruits [J]. Storage & Process, 2009, 1: 30-34
- [3] 李志军,王然.叶、果水势和叶片光合指标对黄金梨果顶硬化发病的影响[J].北方园艺,2011,4:29-32  
LI Zhi-jun, WANG Ran. Effects of leaf and fruit water potential and photosynthetic traits on hard end disease of 'whangkeumbae' fruit [J]. Northern Horticulture, 2011, 4: 29-32
- [4] 宫美英,刘少杰,王瑞萍,等.黄金梨铁头病成因研究初报[J].中国果树,2013,4:33-36  
GONG Mei-ying, LIU Shao-jie, WANG Rui-ping, et al. First study on the causes of hard end 'whangkeumbae' pear fruits [J]. China Fruits, 2013, 4:33-36
- [5] Ohlendorf BLP. Integrated pest management for apples & pears [J]. Division of Agricultural Sciences, 1999
- [6] Raese JT. Effect of calcium sprays on control of black end, fruit quality, yield and mineral composition of 'Bartlett' pears [J]. VI. Int. Symp. Pear Grow, 1993, 367: 314-322
- [7] Raese JT. Fruit disorders, mineral composition and tree performance influenced by rootstocks of 'Anjou' pears [J]. VI. Int. Symp. Pear Grow, 1993, 367: 372-379
- [8] Welsh M. Pear fruit blemishes and defects [J]. Br. Columbia Grow Mag., 1979, 1: 10-12
- [9] Raese JT, Drake SR. Calcium foliar sprays for control of alfalfa greening, cork spot, and hard end in 'Anjou' pears [J]. J. Plant Nutr., 2006, 29: 543-552
- [10] Lu GL, Li ZJ, Zhang XF, et al. Expression analysis of lignin associated genes in hard end pear (*Pyrus pyrifolia* Whangkeumbae) and its response to calcium chloride treatment conditions [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2014, DOI 10.1007/s00344-014-9461-x
- [11] 芮怀瑾. $\text{CaCl}_2$  和热处理对枇杷果实木质化的影响及其机理研究[D].南京:南京农业大学,2009  
RUI Huai-jin. The effect and mechanism of calcium chloride and heat treatment on the loquat fruits [D]. Nan Jing: Nan Jing Agricultural University, 2009
- [12] 龚云池,徐秀娥.鸭梨黑心病与钙素营养的关系[J].园艺学报,1986,13(3):145-148  
GONG Yun-chi, XU Xiu-e. The relationship between brown core of 'Ya Li' and calcium nutrition [J]. Acta Horticulturae Sinica, 1986, 13(3): 145-148

- [13] 赵晓梅,李疆,叶凯,等.采前喷钙对库尔勒香梨黑心病和贮藏品质的影响[J].新疆农业大学学报,2012,35(6):452-456  
ZHAO Xiao-mei, LI Jiang, YE Kai, et al. Effects of preharvest spraying calcium on blackheart and quality of korla pear [J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 2012, 35(6): 452-456
- [14] 王红.喷钙对梨生长、品质及生理缺钙病害影响的研究[D].南京:南京农业大学,2013  
WANG Hong. Effects of spraying calcium fertilizers on the growth, quality and physiological calcium efficiency diseases of pears [D]. Nan Jing: Nan Jing Agricultural University, 2013
- [15] Eugene VR, Engelbrecht AHP. Effect of calcium salts on susceptibility to browning of avocado fruit [J]. Food Sci., 1986, 51(4): 1067-1070
- [16] 罗志军,田秀英.果树钙素营养研究进展[J].北方园艺,2006, 1:56-58  
LUO Zhi-jun, TIAN Xiu-ying. Advances of research on calcium nutrition of fruit trees [J]. Northern Horticulture, 2006, 1: 56-58
- [17] Kou XH, Guo WL, Guo RZ, et al. Effects of chitosan, calcium chloride, and pullulan coating treatments on antioxidant activity in pear cv. 'Huang guan' during storage [J]. Food Bioprocess Technol, 2014, 7: 671-681
- [18] Gupta N, Jawandha SK, Gill PS. Effect of calcium on cold storage and post-storage quality of peach [J]. J. Food Sci. Technol., 2011, 48(2): 225-229
- [19] Garc á JM, Herrera S, Morilla A. Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry [J]. J. Agric. Food Chem., 1996, 44: 30-33
- [20] Yang SL, Sun CD, Wang P, et al. Expression of expansin genes during postharvest lignifications and softening of 'Luoyangqing' and 'Baisha' loquat fruit under different storage conditions [J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 49: 46-53
- [21] 杨绍兰,张晓菲,张新富,等.7个 *PcEXPA* 基因在荏梨和黄金梨果实采后贮藏的表达调控研究[J].华北农学报,2014, 29(3): 153-158  
YANG Shao-lan, ZHANG Xiao-fei, ZHANG Xin-fu, et al. The expression pattern of seven *PcEXPA* genes of chili and whangkeumbae pear during fruit postharvest storage [J]. Acta Agriculturae Boreali Sinica, 2014, 29(3): 153-158
- [22] 路贵龙,张新富,张晓菲,等.采前套袋对荏梨果实贮藏特性的影响[J].现代食品科技,2014,30(12):176-181  
LU Gui-long, ZHANG Xin-fu, ZHANG Xiao-fei, et al. Effect of pre-harvest bagging on the storage characteristics of 'Chili' pear fruit [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(12): 176-181
- [23] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup> $\Delta\Delta$ CT Method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408
- [24] 高雪,杨绍兰,王然,等.近冰温贮藏对鲜切西兰花保鲜效果的影响[J].中国食品学报,2013,13(8):140-146  
GAO Xue, YANG Shao-lan, WANG Ran, et al. Effect of near freezing point on preservation of fresh-cut broccoli [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(8): 140-146
- [25] 王琳,马明星,王丽艳.采前钙处理对园艺产品采后品质及贮藏性的影响[J].塔里木大学学报,2005,17(1):42-43  
WANG lin, MA Ming-xing, WANG Li-yan et al. Effects of calcium treatment on quality and storage of harvest horticultural products [J]. Journal of Tarim University, 2005, 17(1): 42-43
- [26] 张新生,周卫,陈湖.不同钙处理对苹果贮藏品质的影响[J].河北果树,2005,1:15-16  
ZHANG Xin-sheng, ZHOU Wei, CHEN Hu. Effect of calcium treatments on apple qualities during storage [J]. Hebei Fruits, 2005, 1: 15-16
- [27] Alcaraz-Lopez C, Botia M, Alcaraz CF, et al. Effects of foliar sprays containing calcium, magnesium and titanium on plum (*Prunus domestica* L) fruit quality [J]. Journal of Plant Physiology, 2003, 160(12): 1441-1446
- [28] 朱丹实,梁洁玉,吕佳煜,等.秋红李子贮藏过程中水分迁移对其质构的影响[J].现代食品科技,2014,30(12):100-105  
ZHU Dan-shi, LIANG Jie-yu, LV Jia-yu, et al. Effects of moisture mobility on qiuhong plum during storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(12): 100-105
- [29] 周绪宝,习佳林,郝建强,等.采前钙处理对采后草莓贮藏品质的影响[J].北京农学院学报,2012, 27(3): 18-20  
ZHOU Xu-bao, XI Jia-lin, HAO Jian-qiang, et al. Effect of pre-harvest calcium treatment on postharvest quality and storage of strawberry [J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2012, 27(3): 18-20
- [30] Goutam M, Dhaliwal HS, Mahajan BVC. Effect of pre-harvest calcium sprays on post-harvest life of winter guava (*Psidium guajava* L.) [J]. J. Food Sci. Technol, 2010, 47(5): 501-506
- [31] 林真二.梨[M].(吴耕民译).北京:农业出版社,1981:58-69  
LIN Zhen-er. Pear [M]. (WU Geng-min translation). Beijing:

- Agricultural Press, 1981: 58-69
- [32] Cosgrove D J. Expansive growth of plant cell walls [J]. *Plant Physiol. Biochem.*, 2000, 38: 109-124
- [33] Cosgrove D J. Cell wall loosening by expansins [J]. *Plant Physiol*, 1998, 118: 333-339
- [34] Yang S I, Xu C j, Zhang B, et al. Involvement of both subgroups a and b of expansin genes in Kiwifruit fruit ripening [J]. *Hort Science*, 2007, 42(2): 315-319
- [35] Jones L, Mc Queen-Mason S. A role for expansins in dehydration and rehydration of the resurrection plant *craterostigma plantagineum* [J]. *FEBS Lett.*, 2004, 559: 61-65
- [36] Gray-Mitsumune M, Mellerowicz E J, Abe H, et al. Expansins abundant in secondary xylem belong to subgroup a of the  $\alpha$ -expansin gene family [J]. *Plant Physiol*, 2004, 135: 1-13
- [37] Im K H, Cosgrove D J, Jones A M. Subcellular localization of expansin mRNA in xylem cells [J]. *Plant Physiol.*, 2000, 123: 463-470
- Pesquet E, Ranocha P, Legay S, et al. Novel markers of xylogenesis in zinnia are differentially regulated by auxin and cytokinin [J]. *Plant Physiol.*, 2005, 139: 1821-1839