

苹果 3 个早熟品种果实发育后期硬度及其相关生理指标的初步研究

刘超超¹, 魏景利², 徐玉亭¹, 焦其庆¹, 孙海兵¹, 王传增¹, 陈学森^{1,*}

(¹ 山东农业大学作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; ² 山东省冠县国有毛白杨林场, 山东冠县 252500)

摘 要: 以‘泰山早霞’、‘极早红’和‘辽伏’3个早熟苹果品种为试材, 研究果实发育期间果实硬度、细胞壁水解酶及淀粉酶活性、乙烯释放量的变化, 旨在为探讨果实软化机理提供基本资料, 并为早熟苹果品种软化的调控奠定基础。结果表明: ① 3个参试品种果实发育过程中果实硬度基本均呈下降趋势, 但品种间下降的幅度存在明显差异, 其中‘辽伏’花后75 d硬度的下降幅度为35%, ‘泰山早霞’50%, ‘极早红’53%; ② 3个品种果胶甲酯酶(PE)和淀粉酶(Amylase)活性差异不明显, ‘泰山早霞’、‘极早红’的多聚半乳糖醛酸酶(PG)、纤维素酶(Cx)活性明显高于‘辽伏’, 3个品种PG酶、Cx酶活性变化与其果实硬度变化呈显著负相关; ③ 3个参试早熟苹果品种果实发育过程中, 乙烯释放量与PG酶、Cx酶活性呈显著正相关。

关键词: 苹果; 早熟品种; 果实硬度; 生理指标

中图分类号: S 661.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 01-0133-06

Preliminary Study on Firmness and Related Physiological Indices of Three Early-ripening Apple Cultivar During Late Development of the Fruit

LIU Chao-chao¹, WEI Jing-li², XU Yu-ting¹, JIAO Qi-qing¹, SUN Hai-bing¹, WANG Chuan-zeng¹, and CHEN Xue-sen^{1,*}

(¹ State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; ² Guanxian State Forest Farm of *Populus tomentosa*, Guanxian, Shandong 252500, China)

Abstract: In order to study the mechanism of softening in early-ripening apple cultivars, the fruit hardness, activities of amylase, cell wall hydrolysis enzymes and ethylene production were compared among three early-ripening apple cultivars. The results indicated that: ① The fruit hardness of the three cultivars decreased during fruit development, however, in 75 days after blooming date the declining ranges were different in the three cultivars. The declining range of ‘Liaofu’ was 35% while that of ‘Taishan Zaoxia’ and ‘Jizaohong’ were 50% and 53%, respectively; ② Activity of PE and amylase of the three cultivars showed little differences. The activities of PG and Cx in ‘Taishan Zaoxia’ and ‘Jizaohong’ were significantly higher than that of ‘Liaofu’, and the activities of PG and Cx in the three cultivars were negatively correlated with fruit hardness; ③ Ethylene production was positively correlated with the activity of PG and Cx during fruit development.

收稿日期: 2010-10-23; 修回日期: 2010-12-06

基金项目: 国家‘863’计划重点项目(2006AA100108); 山东省农业良种工程项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: chenxs@sdaa.edu.cn; Tel: 0538-8249338)

Key words: apple; early-ripening cultivar; fruit firmness; physiological index

中国是世界苹果生产第一大国,栽培面积和产量均居世界第1位,但目前生产上晚熟品种所占比例(65%)较高,中早熟品种比例偏低(韩明玉,2009),其主要原因是采用的早熟品种大多存在外观品质较差,风味偏淡等不足。针对上述问题,国内学者近几年着力开展了早熟苹果育种研究,并已取得了重要进展,先后育成了‘华硕’、‘华星’及‘泰山早霞’等一批具有自主知识产权的早熟苹果优新品种(过国南等,2009)。其中山东农业大学从苹果种子繁殖的实生砧木苗中选育成的极早熟苹果新品种‘泰山早霞’,具有成熟早、外观美及品质优等特点,经多年的测定分析及专家鉴定,其综合经济性状优于早捷、贝拉及辽伏等早熟苹果品种(王海波等,2007a, 2007b; 陈学森等,2008),但是依然存在果实容易变绵这一早熟苹果的共性问题,影响其产业发展。因此,深入研究早熟苹果品种变绵软化机理,对于下一步从栽培和遗传上调控这一性状具有重要意义。

果实软化是果实发育、成熟的生理生化过程,受到相关酶的调控。但研究表明,控制梨(Ben et al., 1993)、桃(Brummell et al., 2004)、猕猴桃(王贵禧等,1994)等不同果树果实软化的关键酶存在差异。在苹果方面,申曙光等(1991)研究发现,多聚半乳糖醛酸酶(PG)是导致‘富士’苹果果实发育后期快速软化的关键酶,而雷琴(2006)则认为在‘富士’苹果果实发育期间,果胶甲酯酶(PE)对果实硬度的变化起主要作用,研究结论存在明显差异,值得进一步商榷。早熟苹果品种货架期短,要研究其软化及调控机理必须从果实发育期入手。

因此,本研究中以‘泰山早霞’等3个早熟苹果品种为试材,研究了果实发育过程中的硬度及其相关酶活性变化,旨在为探讨果实软化机理提供基本资料,并为早熟苹果品种软化的调控奠定基础。

1 材料与方法

试验于2008—2009年在山东农业大学作物生物学国家重点实验室及山东省聊城市冠县‘泰山早霞’示范基地进行,以‘泰山早霞’、‘极早红’与‘辽伏’3个早熟苹果品种为试材,树龄6~8年生,常规管理,生长结果正常。

试验地土壤为沙壤土,地势平坦,立地条件一致;由于3个品种果实发育期均为75 d左右,分别于花后30 d开始每10 d取样1次,花后60 d开始每5 d取样1次,直至花后80 d果实完全成熟,每次每品种分别随机采集生长发育一致的果实样品10个用于各项指标的测定。所有测定结果均为3次重复的平均值。

果实硬度采用GY-3型果实硬度计测定。

多聚半乳糖醛酸酶(PG)及纤维素酶(Cx)活性测定参照韩雅珊(1996)方法进行,果胶甲酯酶(PE)活性测定参照Zhou等(2000)的方法进行,淀粉酶活性测定参照《生物化学实验技术原理和方法》(王宪泽,2002)中的方法进行。

将5个样品放在装有橡皮塞的玻璃容器内,25℃密封2 h后用注射器抽取气体进行乙烯含量测定。乙烯测定用岛津GC-9A型气相色谱仪,单位 $\text{nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$,色谱条件:固定相GDX-502,载气 N_2 和 H_2 流速 $40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,氢火焰离子检测器,分离柱温度70℃,气化室和检测器温度120℃。气体样品进样量1 mL,重复3次取平均值。

将3个参试品种的果实硬度,乙烯释放量与各细胞壁降解酶、淀粉酶活性进行相关性分析,得到相应的相关系数,并进行显著性测验。

2 结果与分析

2.1 早熟苹果品种果实发育过程中的硬度变化

3 个早熟苹果品种果实发育过程中不同时期的硬度测定结果见图 1。由图 1 可以看出, 3 个品种的果实硬度基本均呈下降趋势, 但品种间下降的幅度及快速下降的迟早存在明显差异, 其中‘辽伏’品种从花后 50 d 到花后 75 d, 硬度下降的幅度为 35%, 而‘泰山早霞’和‘极早红’下降幅度分别为 50% 和 53%, 其中‘极早红’的快速下降期比‘泰山早霞’早大约 10 d 左右。

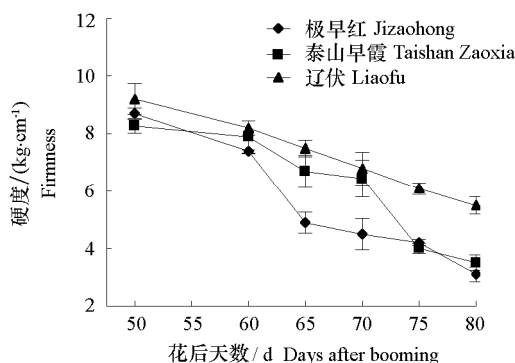


图 1 苹果 3 个早熟品种在果实发育期间的硬度变化

Fig. 1 Changes in firmness of three early-ripening apple cultivars during ripening period

2.2 早熟苹果品种果实发育过程中 3 种细胞壁降解酶活性及淀粉酶活性的变化

从图 2 可以看出, 3 个品种果实从开花至花后 65 d 多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性一直均呈上升

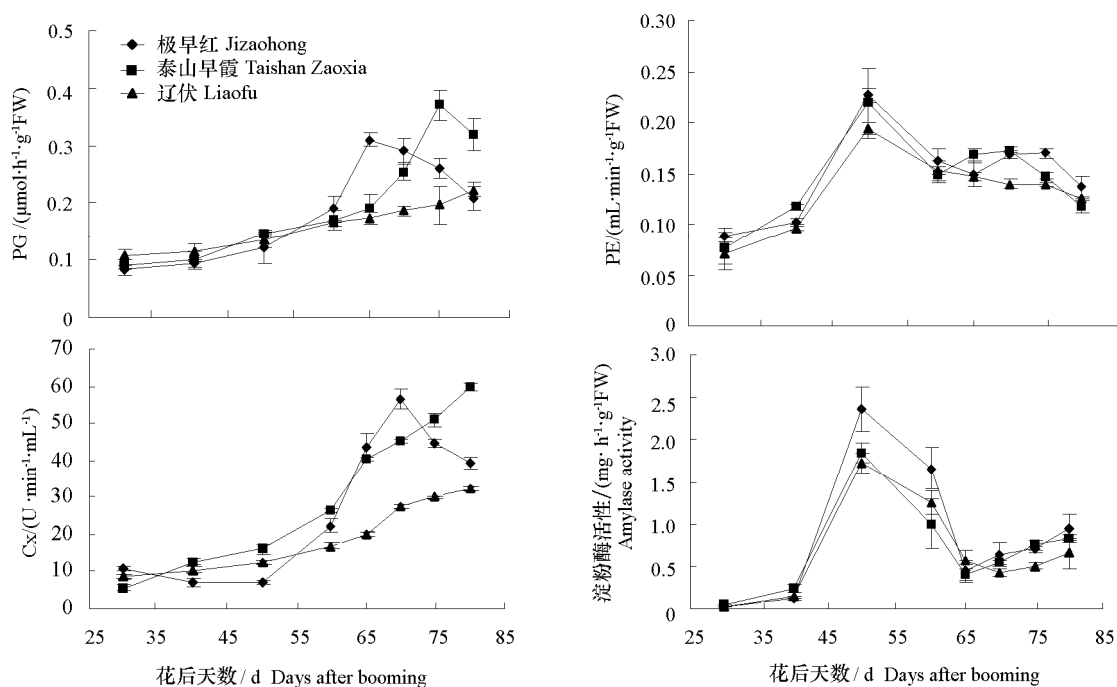


图 2 苹果 3 个早熟品种果实发育过程中多聚半乳糖醛酸酶 (PG)、果胶甲酯酶 (PE)、纤维素酶 (Cx) 及淀粉酶活性变化

Fig. 2 Changes in PG, PE, Cx activity and amylase activity of three early-ripening apple cultivars during ripening period

趋势，其中‘辽伏’呈缓慢上升态势，而‘极早红’和‘泰山早霞’分别于花后 65 d 和 75 d 时出现高峰，明显高于同期的‘辽伏’，之后缓慢下降；3 个品种果实发育过程中纤维素酶（Cx）活性总体均呈上升趋势，但在花后 60 d ‘极早红’及‘泰山早霞’ Cx 活性开始快速升高，并且明显高于‘辽伏’；3 个品种果实发育过程中果胶酶（PE）及淀粉酶活性均在花后 50 d 出现了一个明显的高峰，3 个品种间的变化趋势基本一致。

2.3 早熟苹果品种果实发育过程中乙烯释放速率及相关酶活性的变化

由图 3 可以看出，3 个品种乙烯释放速率变化趋势基本一致，但活性高峰出现的迟早及急剧上升的幅度之间存在明显差异，其中‘极早红’和‘泰山早霞’分别于花后 65 d 和 75 d 时出现高峰，均明显高于同期的‘辽伏’，之后下降，而‘辽伏’虽然在 75 d 时亦出现了高峰，但峰值仅为 16 $\text{nL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ 。

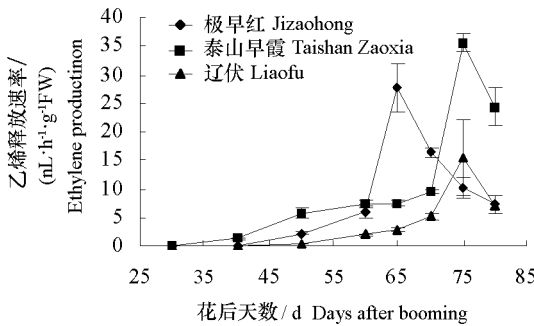


图 3 苹果 3 个早熟品种果实发育过程中乙烯释放速率变化

Fig. 3 Changes in ethylene production of three early-ripening apple cultivars during ripening period

2.4 果实硬度，乙烯释放速率与各细胞壁降解酶、淀粉酶活性的相关性分析

‘泰山早霞’、‘极早红’及‘辽伏’果实发育过程中，果实硬度、乙烯释放速率与各细胞壁降解酶、淀粉酶活性的相关性比较结果见表 1。由表 1 可以看出，‘泰山早霞’参试品种的果实硬度与 PG 酶、Cx 酶活性及乙烯释放速率之间呈极显著负相关，相关系数分别为 -0.9694、-0.9642、-0.9085；乙烯释放速率与 PG 酶、Cx 酶活性则呈正相关，其中与 PG 酶的相关性极显著，相关系数为 0.9513；‘极早红’、‘辽伏’与‘泰山早霞’在果实硬度、乙烯释放速率与各细胞壁降解酶、淀粉酶活性的相关性上呈现相似规律。

表 1 苹果 3 个早熟品种果实硬度，乙烯释放速率与各细胞壁降解酶、淀粉酶活性的相关性系数

Table 1 The correlation coefficient of ethylene production, related enzymes activity and firmness of three early-ripening apple

项目 Item	泰山早霞 Taishan Zaoxia		极早红 Jizaohong		辽伏 Liaofu	
	硬度 Firmness	乙烯释放速率 Ethylene production	硬度 Firmness	乙烯释放速率 Ethylene production	硬度 Firmness	乙烯释放速率 Ethylene production
硬度 Firmness	-	- 0.9085**	-	- 0.6645*	-	- 0.8008**
PG 酶活性 PG activity	- 0.9694**	0.9513**	- 0.9707**	0.9090**	- 0.9913**	0.7374*
PE 酶活性 PE activity	- 0.1758	0.0558	- 0.2941	0.2098	- 0.2795	0.1099
Cx 酶活性 Cx activity	- 0.9642**	0.8072**	- 0.9135**	0.7799*	- 0.9892**	0.8216**
淀粉酶活性 Amlase activity	- 0.2168	0.1842	- 0.0234	0.1577	- 0.0386	0.1280

注：* 表示 5% 的差异显著水平；**表示 1% 差异极显著水平。
Note: * means the significant level of 5% and ** means the significant level of 1%.

3 讨论

3.1 早熟苹果品种果实发育过程中硬度变化及其相关酶活性之间的关系

果实硬度的下降与细胞壁各组分降解酶的活性变化关系密切, 但不同果树及同一果树果实不同发育时期控制果实软化的关键酶存在差异。Ben 等 (1993) 认为多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 及其引起的梨果胶组成的变化是细胞间粘合力下降、果实软化的主要原因; 而 Brummell 等 (2004) 研究后发现, 桃纤维素酶使纤维素降解, 从而导致细胞壁纤维素微纤丝—半纤维素—果胶质“经纬结构”的松散, 最终导致细胞壁的解体及果实软化; 在猕猴桃上, 淀粉酶 (Amylase) 活性的增高及淀粉的降解又是其软化的关键所在 (王贵禧 等, 1994)。本研究结果表明, 3 个参试品种果实发育过程中果实硬度基本均呈下降趋势, 但品种间下降的幅度存在明显的差异; 在对相应酶的研究后发现, 3 个品种多聚半乳糖醛酸酶 (PG)、纤维素酶 (Cx) 活性变化与其果实硬度变化呈显著负相关, 即在 3 个早熟品种果实发育期间, 多聚半乳糖醛酸酶 (PG)、纤维素酶 (Cx) 是调控其硬度变化的关键酶, 这与申曙光等 (1991) 在晚熟苹果品种‘富士’上的研究结论基本一致, 但在‘富士’苹果果实发育期间, 多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性总体呈缓慢上升趋势, 没有一个明显的活性高峰。因此, 作者认为参试早熟苹果品种‘极早红’和‘泰山早霞’多聚半乳糖醛酸酶 (PG)、纤维素酶 (Cx) 活性快速上升及多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 高峰的出现是导致其硬度快速下降、货架期短的关键原因。

3.2 早熟苹果品种果实发育过程中乙烯释放速率与细胞壁降解酶活性之间的关系

对植物而言, 其通过一系列基因的表达, 最后由乙烯调控果实成熟。在果实发育过程中, 乙烯就开始起作用, 接近成熟时, 乙烯大量产生, 从而引起果实在色泽、硬度、香味及其它生物学特性的变化 (朱树华, 2006)。对‘秦冠’苹果的研究结果表明, 乙烯通过促进控制果实软化的细胞壁水解酶活性的方式, 来调控果实的成熟、软化 (杨力 等, 2009); 对油桃品种的研究结果表明乙烯不仅可以诱导多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 和纤维素酶 (Cx) 活性高峰提前到来, 而且能增加其峰值 (王俊宁 等, 2005); Hiwasa 等 (2003) 研究表明梨果实成熟后期多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 基因的表达受乙烯诱导。本研究结果表明, 3 个参试早熟苹果品种果实发育过程中, 乙烯释放量的动态变化与多聚半乳糖醛酸酶 (PG)、纤维素酶 (Cx) 活性变化之间呈显著正相关。因此认为参试早熟苹果品种‘极早红’和‘泰山早霞’多聚半乳糖醛酸酶 (PG)、纤维素酶 (Cx) 活性快速上升及高峰的出现可能是乙烯作用的结果, 如何在早熟苹果品种的果实发育阶段控制果实内源乙烯的合成和释放就成为调控苹果早熟品种果实容易变绵这一问题的关键所在。

References

- Ben Arie R, Kisler N, Frenkel C. 1993. Degradation and solubilization of pectin by β -galactosidases purified from avocadosocarp. *Plant Physiol*, 87: 279 - 285.
- Brummell D A, Dalcin V, Crisosto C H, Labavitch J M. 2004. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *Journal of Experimental Botany*, 55: 2029 - 2039.
- Chen Xue-sen, Xin Pei-gang, Zhang Tai-yan, Zhang Yan-min, Peng Fu-tian, Zhou Chao-hua, Jiang Yuan-mao, Chen Xiao-liu, Wang Hai-bo. 2008. A new very early-ripening apple cultivar ‘Taishan Zaoxia’. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (1): 148. (in Chinese)
- 陈学森, 辛培刚, 张太岩, 张艳敏, 彭福田, 周朝华, 姜远茂, 陈晓流, 王海波. 2008. 极早熟苹果新品种‘泰山早霞’. *园艺学报*, 35 (1): 148.
- Guo Guo-nan, Yan Zhen-li, Zhang Heng-tao, Zhang Shun-ni, Liu Zhen-zhen. 2009. Current situation of production of early and mid season apple

- cultivars in China and progress in breeding for early and mid season apple cultivars. *Journal of Fruit Science*, 26 (6): 871 - 877. (in Chinese)
- 过国南, 阎振立, 张恒涛, 张顺妮, 刘珍珍. 2009. 我国早、中熟苹果品种的生产现状、选育进展及发展展望. *果树学报*, 26 (6): 871 - 877.
- Han Ming-yu. 2009. Modern apple-industry technology research system of China. The apple industry technology development report (2008). (in Chinese)
- 韩明玉. 2009. 国家现代苹果产业技术体系. 2008 年度苹果产业技术发展报告.
- Han Ya-shan. 1996. Instruction in food chemistry experiment. Beijing: Chinese Agricultural University Press: 140 - 142. (in Chinese)
- 韩雅珊. 1996. 食品化学实验指导. 北京: 中国农业大学出版社: 140 - 142.
- Hiwasa K, Kinugasa Y, Amano S, Hashimoto A, Ryohei N, Inaba A, Kubo Y. 2003. Ethrel is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *Exp Bot*, 54 (383): 771 - 779.
- Lei Qin. 2006. Characteristic study of quality changes during the apple ripening [M. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 雷 琴. 2006. 苹果成熟过程中品质变化特性研究 [硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Shen Shu-guang, Ma Bao-kun, Chen Si-wei. 1991. Studies on the physiological and biochemical changes during the development of the 'Fuji' apple fruit. *Fruit Sci*, 8 (1): 1 - 6. (in Chinese)
- 申曙光, 马宝焜, 陈四维. 1991. 红富士苹果果实发育期间生理生化变化的研究. *果树科学*, 8 (1): 1 - 6.
- Wang Gui-xi, Han Ya-shan, Yu Liang. 1994. The relationship between amylase activity and softening of kiwifruit after harvest. *Acta Horticulturae Sinica*, 21 (4): 329 - 333. (in Chinese)
- 王贵禧, 韩雅珊, 于 梁. 1994. 猕猴桃总淀粉酶活性与果实软化的关系. *园艺学报*, 21 (4): 329 - 333.
- Wang Hai-bo, Chen Xue-sen, Xin Pei-gang, Feng Tao, Shi Jun, Ci Zhi-juan. 2007a. GC-MS analysis of volatile components in several early apple cultivars. *Journal of Fruit Science*, 24 (1): 11 - 15. (in Chinese)
- 王海波, 陈学森, 辛培刚, 冯 涛, 石 俊, 慈志娟. 2007a. 几个早熟苹果品种香气成分的 GC-MS 分析. *果树学报*, 24 (1): 11 - 15.
- Wang Hai-bo, Chen Xue-sen, Xin Pei-gang, Zhang Xiao-yan, Ci Zhi-juan, Shi Jun, Zhang Hong. 2007b. Study on sugar and acid constituents in several early apple cultivars and evaluation of their flavor quality. *Journal of Fruit Science*, 24 (4): 513 - 516. (in Chinese)
- 王海波, 陈学森, 辛培刚, 张小燕, 慈志娟, 石 俊, 张 红. 2007b. 几个早熟苹果品种果实糖酸组分及风味品质的评价. *果树学报*, 24 (4): 513 - 516.
- Wang Jun-ning, Rao Jing-ping, Gong De-qiang, Ren Xiao-lin. 2005. Effects of 1-MCP on softening of nectarine induced by exogenous ethrel. *Storage and Process*, 1 (5): 34 - 36. (in Chinese)
- 王俊宁, 饶景萍, 宫德强, 任小林. 2005. 1-MCP 对外源乙烯诱导油桃果实软化的影响. *保鲜与加工*, 1 (5): 34 - 36.
- Wang Xian-ze. 2002. Biochemical principles and methods of experimental techniques. Beijing: Chinese Agricultural University Press: 172 - 174. (in Chinese)
- 王宪泽. 2002. 生物化学实验技术原理和方法. 北京: 中国农业大学出版社: 172 - 174.
- Yang Li, Wang Jiang-lang, Ma Hui-ling. 2009. Effect of ethylene on the degradation of apple cell wall. *Acta Bot Boreal Occident Sin*, 29 (2): 320 - 326. (in Chinese)
- 杨 力, 王江浪, 马惠玲. 2009. 乙烯对苹果果实细胞壁降解效应初探. *西北植物学报*, 29 (2): 320 - 326.
- Zhou H W, Sonogo L, Khalchitski A, Ben-Arie R, Lers A, Lurie S. 2000. Cell wall enzymes and cell wall changes in 'Flavortop' nectarines: mRNA abundance, enzyme activity and changes in pectic and neutral polymers during ripening and in woolly fruit. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 125: 630 - 637.
- Zhu Shu-hua. 2006. Regulation mechanism of nitric oxide on the ripening and senescence in fruits of strawberry and 'Feicheng' peach [Ph. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 朱树华. 2006. 一氧化氮对草莓和肥城桃果实成熟衰老的调控机理研究 [博士论文]. 泰安: 山东农业大学.