

# 新疆红肉苹果杂交后代绵/脆肉株系果实质地差异相关酶活性的初步研究

高利平, 冀晓昊, 张艳敏, 宋 君, 李 敏, 刘大亮, 张 芮, 陈学森\*

(山东农业大学作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018)

**摘 要:** 以‘富士’× 新疆红肉苹果杂交 F<sub>1</sub> 群体中的 2 个绵肉株系‘绵肉 1 号’、‘绵肉 2 号’和 2 个脆肉株系‘脆肉 1 号’、‘脆肉 2 号’不同发育时期的果实为试材, 测定其果实硬度、脆度、乙烯释放量和细胞壁降解酶活性, 分析探讨它们之间的相关性。结果表明: ①2 个脆肉株系各个时期的果实硬度和脆度均显著高于 2 个绵肉株系; ②在幼果期和果实膨大期的乙烯释放量均小, 绵肉株系与脆肉株系间差异不明显, 在花后 130 d 的成熟期, 2 个绵肉株系的乙烯释放量是 2 个脆肉株系的 10 倍; ③2 个绵肉株系果实的果胶酶和  $\beta$ -半乳糖苷酶活性绝大部分发育时期高于 2 个脆肉株系, 而  $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶、 $\beta$ -木糖苷酶、淀粉酶和脂氧合酶的活性在发育前期差异较小, 到发育后期 2 个绵肉株系显著高于 2 个脆肉株系; ④相关分析显示, 绵肉脆肉特性与多聚半乳糖醛酸酶、 $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶及淀粉酶活性密切相关。

**关键词:** 新疆红肉苹果; F<sub>1</sub> 群体; 绵/脆肉; 酶活性

**中图分类号:** S 661.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2013) 06-1153-09

## The Preliminary Study on the Enzymes Activity Related to Fruit Texture of the Fruit of Soft/Crisp Strains from the Cross Progenies of ‘Fuji’ and *Malus sieversii*

GAO Li-ping, JI Xiao-hao, ZHANG Yan-min, SONG Jun, LI Min, LIU Da-liang, ZHANG Rui, and CHEN Xue-sen\*

(State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

**Abstract:** Using the two soft strains ‘Mianrou 1’ and ‘Mianrou 2’ and two crisp strains ‘Cuiyou 1’ and ‘Cuiyou 2’ selected from the F<sub>1</sub> cross progenies of ‘Fuji’ and *Malus sieversii* as the experimental materials, we measured the fruit firmness, fracturability, ethylene release and cell wall degrading enzymes and analyzed their correlation. The results indicated that: 1) The firmness and fracturability of two crisp strains were extremely significantly higher than that of two soft strains during various period; 2) The ethylene production rate was low and there is no obvious difference between the soft and crisp strains in the young fruit and fruit enlargement period, but the ethylene release rate in the fruit of two soft strains is

**收稿日期:** 2012-11-26; **修回日期:** 2013-05-14

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (31171932); 国家重点基础研究发展计划课题 (2011CB100606); 山东省农业良种工程项目 [鲁农良种字 (2011) 7 号]

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

ten times of that of two crisp ones in 130 days after blossom, which the fruit reached the mature period; 3) Activity of pectinase and  $\beta$ -galactosidase in two soft strains were higher than that of two crisp strains in the most fruit growing period. But for the activity of  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase,  $\beta$ -xylosidase, amylase and lipoxygenase, the difference between that in the two crisp and soft strains was little in the early fruit development period, while the activity of them in the two soft strains were significantly higher than that of two crisp strains in the later fruit growing period; 4) The correlation analysis showed that the soft/crisp flesh character was closely related to the enzyme activities of polygalacturonase,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase and amylase.

**Key words:** *Malus sieversii*;  $F_1$  progenies; soft/crisp flesh; enzyme activity

新疆野苹果[塞威士苹果, *Malus sieversii* (Lebed.) Roem.]是世界栽培苹果的祖先种, 不仅遗传多样性丰富, 抗旱性强, 结果树龄早, 而且酚和 Ca 含量高, 还含有缩醛类和内酯类等多种特有成分(李育农, 2001; 冯涛 等, 2006; Chen et al., 2007; 张小燕 等, 2008)。有效利用新疆野苹果开展远缘杂交育种是拓展苹果遗传多样性、培育功能型苹果的重要技术途径。为此, 山东农业大学自 2006 年以来, 构建了‘富士’等苹果品种与新疆红肉苹果[*M. sieversii* f. *neidzwetzkyana* (Dieck) Langen] (有 4 个类型, 均为绵肉) 的杂种分离群体 10 个, 定植杂种实生苗 2 万余株。初步的研究发现, 杂种后代 130 个株系果实大小、硬度、脆度以及可溶性固形物、总酚、花色苷及矿质元素含量等 19 个性状指标变异系数均在 10% 以上, 并出现了红肉/白肉及绵肉/脆肉等复杂多样的分离, 为进一步选择、培育苹果新品种提供了种质。

果实的质地不仅是鲜品质的重要构成因素, 同时也是储运品质的重要评价指标。Ben 等(1993)认为多聚半乳糖醛酸酶(PG)是引起梨果实软化的主要原因。王贵禧等(1994)研究认为淀粉酶(AM)是猕猴桃果实软化的关键酶。而 Brummell 等(2004)研究后发现, 纤维素酶导致了桃果实细胞壁的解体及果实软化。在苹果上, 魏建梅(2009)研究发现, ‘富士’果实硬度的下降幅度明显低于不耐贮的‘金冠’, 两品种的 PG、 $\beta$ -半乳糖苷酶( $\beta$ -Gal)及  $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶( $\alpha$ -L-Af)等细胞壁降解酶基因的表达量总体均呈逐渐增加的趋势, 但‘金冠’均明显高于‘富士’。刘超超等(2011)研究结果表明, 果实发育后期乙烯释放量高峰的到来是引起‘泰山早霞’苹果 PG 等酶活性高峰的出现, 进而引起了果实硬度剧烈下降的主要原因。

不同果树或同一果树的不同品种, 关于质地的调控因素存在一定差异。近几年的品评鉴定发现, ‘富士’与新疆红肉苹果杂种  $F_1$  代中的绵肉株系, 在果实发育的中后期就已软化变绵, 这与早熟品种‘泰山早霞’发育后期或短期贮藏(7~10 d)后的软化变绵以及中熟品种‘金帅’长期贮藏(60 d 以上)后的软化变绵明显不同, 而  $F_1$  代中的脆肉株系在果实发育的中后期以及采后始终保持硬脆多汁的特性, 其发育的生理机制至今未见研究报道。

本研究中以‘富士’与新疆红肉苹果杂交  $F_1$  代中的绵肉和脆肉株系不同发育时期的果实为试材, 探讨果实硬度、乙烯释放量与细胞壁降解酶等活性变化及其相互关系, 旨在为新品系的选育与调控提供科学依据, 并为丰富苹果质地发育的理论体系提供基本资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验于 2010—2012 年在山东农业大学作物生物学国家重点实验室及山东省泰安市横岭果树育

种基地进行, 供试材料为‘富士’(母本)与新疆红肉苹果(父本)杂交  $F_1$  群体中的果实发育期基本一致、而质地差异明显的‘绵肉 1 号’、‘绵肉 2 号’、‘脆肉 1 号’和‘脆肉 2 号’等 4 个株系。育种圃为山区丘陵地, 土壤为沙壤土。

杂种材料是 2006 年杂交, 2007 年定植, 2009—2010 开花坐果, 果实发育期为 130 d 左右。于 2011 年 5 月盛花后 30 d 开始采样, 每 20 d 采样 1 次, 接近成熟时每 10 d 采样 1 次, 累计 8 次。每次在每一株树上随机采摘果形端正、无病虫害及机械损伤的果实 15 ~ 25 个, 分成两部分, 一部分直接测定乙烯释放量和硬度、脆度等指标, 另一部分去皮去核切成小块液氮冷冻处理后, 在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱保存备用酶活性测定。

## 1.2 果实硬度及乙烯释放速率的测定

果实硬度和脆度测定采用马庆华等(2011)的方法, 用英国 Stable Micro Systems 公司生产的 TA.XT plus 质构仪, 采用 P/2 针状探头(直径 2 mm), 测前速度  $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , 贯入速度  $1\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , 测后速度  $5\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , 穿刺深度为 8 mm, 最小感知力为 10 g。每次测定随机取 5 个果实, 在阴阳两面测定, 取平均值。

乙烯释放速率测定采用气相色谱仪法, 用岛津 GC-9A 型气相色谱仪测定。将 5 个果实放入玻璃容器内,  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  密封 3 h 后用注射器抽取气体进行测定。色谱条件: 固定相 GDX-502, 载气  $\text{N}_2$  和  $\text{H}_2$  流速  $40\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 氢火焰离子检测器, 分离柱温度  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 气化室和检测器温度  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 气体样品进样量为 1 mL。重复 3 次, 取平均值。

## 1.3 果胶酶和糖苷酶活性测定

酶液提取参照 Zhou 等(2000)、Brummell 等(2004)和魏建梅(2009)的方法略加改进。取果肉加液氮研磨后准确称取 3 g, 加 6 mL 0.2%亚硫酸钠溶液摇匀,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心, 取沉淀加入  $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的醋酸钠缓冲液 [ $\text{NaCl } 100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 1%(体积比)巯基乙醇, 1.5% PVP(K-30)] 15 mL, 冰槽中摇匀后, 离心同上, 上清液用于酶活性测定。PG 活性的测定参照 Gross(1982)和魏建梅(2009)中的方法, 底物为多聚半乳糖醛酸(Sigma 公司), 以 D-(+)半乳糖醛酸为标样, 以  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  下每克鲜样每分钟分解产生  $1\text{ }\mu\text{g}$  游离半乳糖醛酸为 1 个酶活力单位(U)。果胶甲酯酶(PME)测定参照 Brummell 等(2004)的方法, 取 2 mL 粗酶液加 8 mL  $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的果胶液, 用 NaOH 调 pH 7.4 并维持 10 min, 以单位鲜质量样品在 1 min 内消耗的 NaOH 的量表示果胶甲酯酶活性。酶活性测定各重复 3 次。

$\beta$ -Gal、 $\alpha$ -L-Af 和  $\beta$ -木糖苷酶( $\beta$ -Xyl)的酶活性测定参照 Brummell 等(2004)和 Abel 等(2011)的方法, 以对硝基酚做标准曲线, 分别以对硝基酚半乳糖苷、对硝基酚阿拉伯糖苷和对硝基酚木糖苷(Sigma 公司)为底物, 加入酶液在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  反应 30 min 后于  $400\text{ nm}$  下测定, 以释放对硝基苯酚的量表示酶活性, 其中  $\beta$ -Gal 和  $\beta$ -Xyl 的酶活性用  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  表示,  $\alpha$ -L-Af 的酶活性用  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  表示。

酶活性测定各重复 3 次。

## 1.4 脂氧合酶和淀粉酶活性测定

脂氧合酶(LOX)活性参照陈昆松(2003)的方法。取果肉液氮研磨后称取 2.0 g, 加入 6 mL  $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸缓冲液(pH 7.0),  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  离心, 上清液为粗酶液。在反应体系中加入反应底物( $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  亚油酸钠)  $25\text{ }\mu\text{L}$ ,  $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  柠檬酸—磷酸缓冲液(pH 6.0)  $2.775\text{ mL}$ ,  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  温育, 加酶液 0.2 mL 后 15 s 开始计时, 记录 1 min 内  $\text{OD}_{234}$  变化, 酶活以  $\Delta\text{OD}_{234}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  表示。重

复 3 次。

淀粉酶 (AM) 活性测定参照《生物化学实验技术原理和方法》(王宪泽, 2002) 中的方法略加改进。取果肉液氮研磨后称取 5.0 g, 倒入 25 mL 容量瓶, 用重蒸水稀释至刻度, 放置 5~20 min 后,  $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 5 min, 取上清液稀释 20 倍备用。以淀粉溶液为反应底物,  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温水浴中反应后, 加入 3,5-二硝基水杨酸试剂染色, 在 520 nm 处测吸光度。以葡萄糖做标准曲线, 计算淀粉酶活性。重复 3 次。

## 1.5 数据分析

采用 SPASS 进行数据相关性分析和显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 ‘富士’ × 新疆红肉苹果杂交后代 4 个株系果实硬度和脆度的变化

‘富士’与新疆红肉苹果杂种 4 个株系的果实随着成熟进程, 硬度和脆度整体呈下降趋势, 但 2 个脆肉株系各个时期的果实硬度和脆度均明显高于 2 个绵肉株系 (图 1)。脆肉株系的果实硬度在花后 90 d 开始剧烈下降, 而绵肉株系从花后 70 d 就有明显下降。4 个株系果实脆度的下降趋势比较一致, 发育早期和成熟期下降较快。

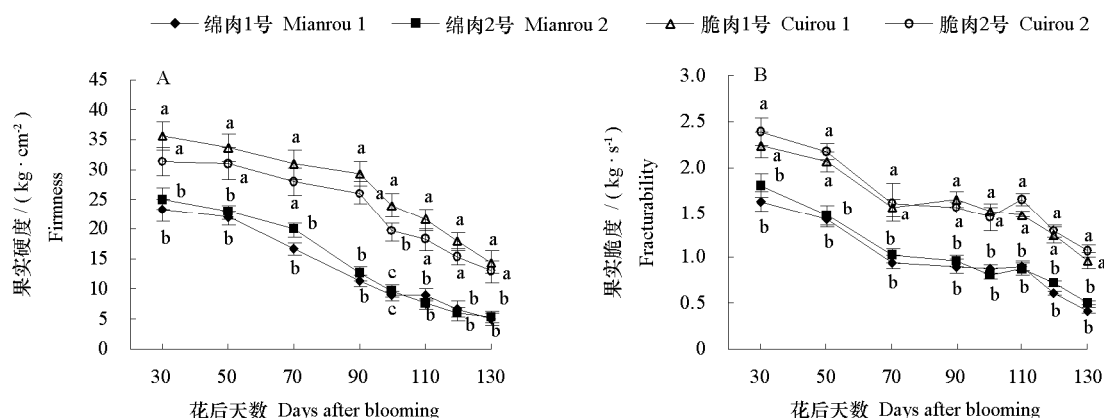


图 1 ‘富士’ × 新疆红肉苹果杂交后代 4 个株系果实整个发育期果实硬度和脆度的变化

不同字母表示相同时间在  $P = 0.05$  水平上有显著性差异。下同。

Fig. 1 Changes in firmness and fracturability of four apple strains of the progenies of the cross of ‘Fuji’ and *Malus sieversii* during the whole development period

Values with the different letters have significant differences at  $P = 0.05$  level among four apple strains at the same period. The same below.

### 2.2 ‘富士’ × 新疆红肉苹果杂交后代 4 个株系乙烯释放速率的变化

由图 2 可以看出, 4 个株系的果实在幼果期和果实膨大期乙烯释放速率小, 株系间差异不明显, 花后 100 d 后乙烯释放量明显上升, 到花后 130 d 的成熟期, 2 个绵肉株系的乙烯释放速率与 2 个脆肉株系的相差 10 倍左右。

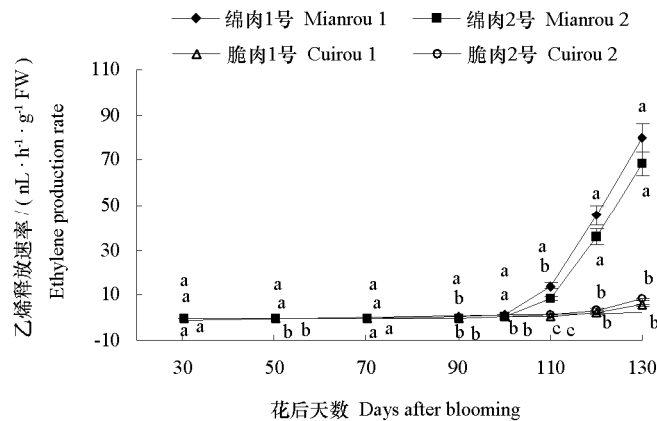


图2 ‘富士’ × 新疆红肉苹果杂交后代4个株系果实整个发育期乙烯释放速率的变化

Fig. 2 Changes in ethylene production rate of four apple strains of the progenies of the cross of ‘Fuji’ and *Malus sieversii* during the whole development period

## 2.3 ‘富士’ × 新疆红肉苹果杂交后代4个株系酶活性的变化

### 2.3.1 果胶降解酶

由图3可以看出,4个株系多聚半乳糖醛酸酶(PG)酶活性在整个果实发育过程中虽然均呈上升趋势,但2个绵肉株系各个时期的酶活性均显著高于2个脆肉株系。4个株系果胶甲酯酶(PME)活性均在花后50 d有个高峰,然后下降,后期又上升,但2个绵肉株系始终高于2个脆肉株系。

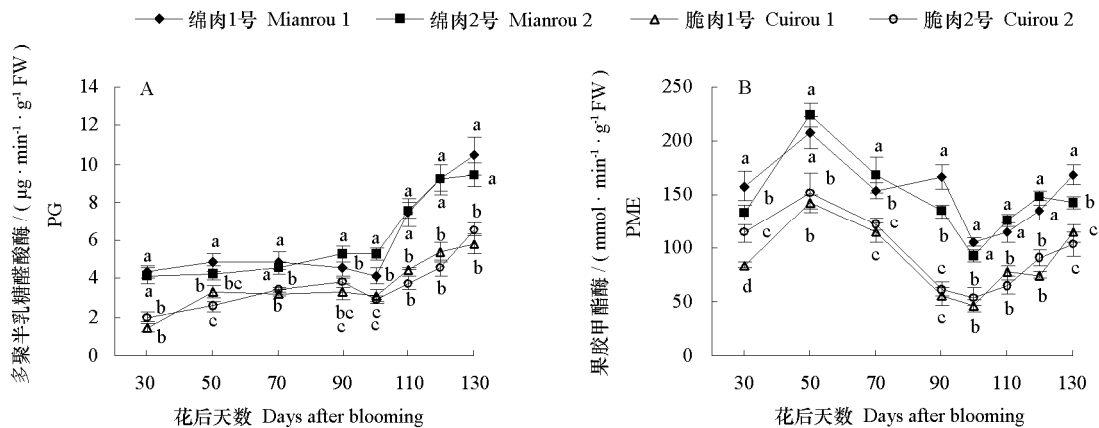


图3 ‘富士’ × 新疆红肉苹果杂交后代4个株系果实整个发育期多聚半乳糖醛酸酶果胶甲酯酶活性的变化

Fig. 3 Changes in PG and PME activity of four apple strains of the progenies of the cross of ‘Fuji’ and *Malus sieversii* during the whole development period

### 2.3.2 糖苷酶

由图4可以看出,4个株系β-半乳糖苷酶(β-Gal)活性总体呈先下降后上升的趋势,发育前期和成熟期2个绵肉株系明显高于2个脆肉株系。α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α-L-Af)活性总体发育前期变化平缓,在花后90 d呈上升趋势,2个绵肉株系在花后90 d后明显高于2个脆肉株系。

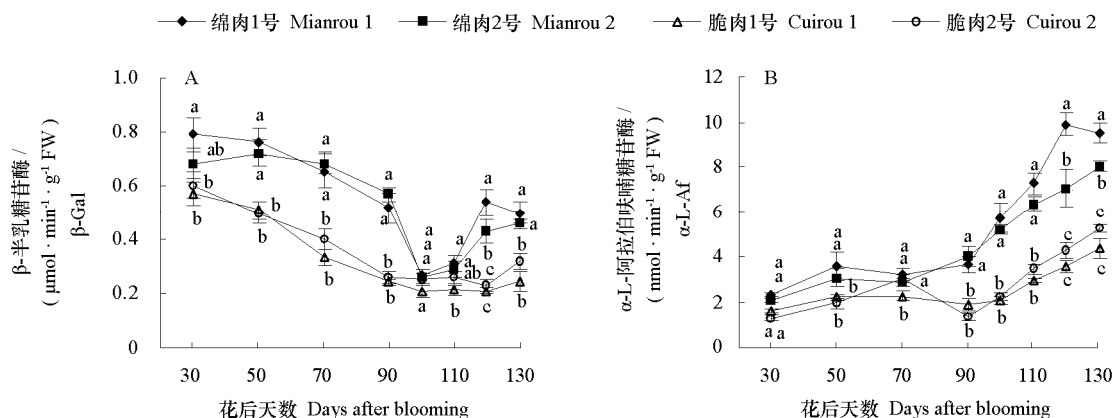


图4 ‘富士’×新疆红肉苹果杂交后代4个株系果实整个发育期 $\beta$ -半乳糖苷酶和 $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶活性的变化

Fig. 4 Changes in  $\beta$ -Gal and  $\alpha$ -L-Alf activity of four apple strains of the progenies of the cross of ‘Fuji’ and *Malus sieversii* during the whole development period

### 2.3.3 淀粉酶、脂氧合酶和 $\beta$ -木糖苷酶

由图5可以看出,4个株系果实的淀粉酶(AM)活性整体呈现上升的趋势,在花后70d后,2个绵肉株系显著高于2个脆肉株系。4个株系的脂氧合酶(LOX)在发育前期整体呈缓慢下降的趋势,在花后110d,2个绵肉株系明显上升且高于2个脆肉株系。4个株系 $\beta$ -木糖苷酶( $\beta$ -Xyl)活性整体在发育前期变化平缓,在花后110d都呈明显上升的趋势,但2个绵肉株系显著高于2个脆肉株系。

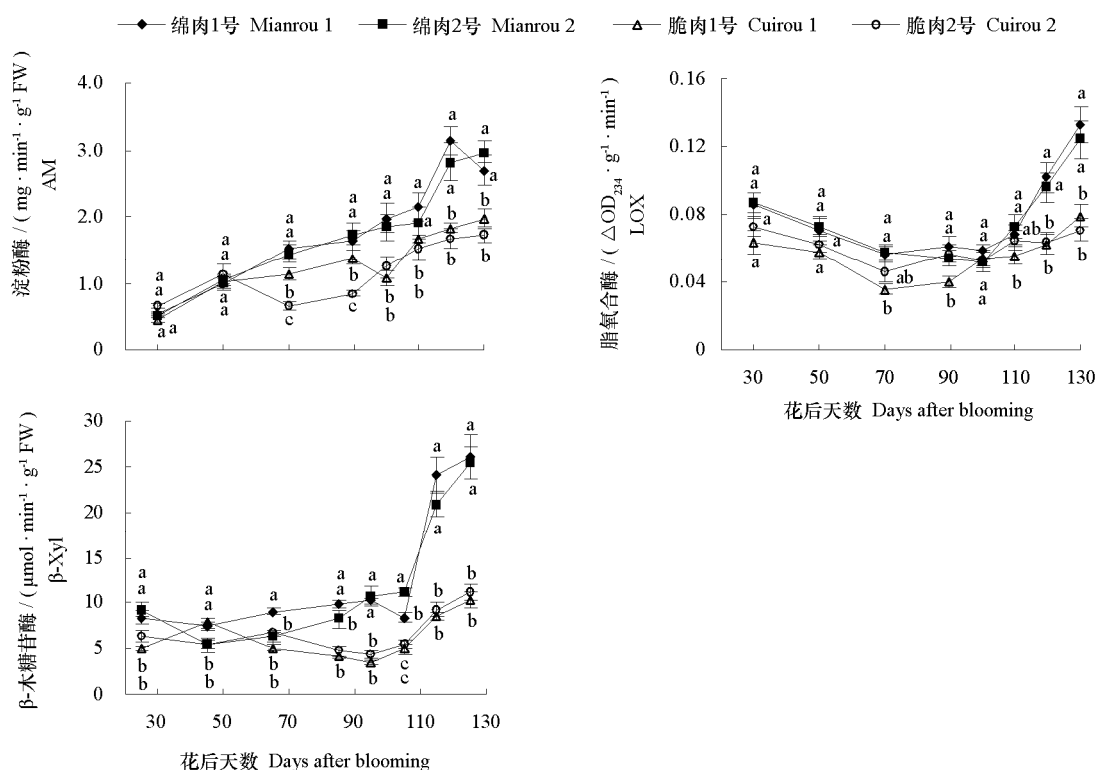


图5 ‘富士’×新疆红肉苹果杂交后代4株系果实整个发育期淀粉酶、脂氧合酶和 $\beta$ -木糖苷酶活性的变化

Fig. 5 Changes in amylase, LOX and  $\beta$ -Xyl activity of four apple strains of the progenies of the cross of ‘Fuji’ and *Malus sieversii* during the whole development period

2.4 果实硬度、脆度和乙烯释放速率与果胶酶、糖苷酶、淀粉酶和脂氧合酶活性的相关性分析

‘富士’与新疆红肉苹果杂种 F<sub>1</sub> 群体 4 个株系果实发育过程中果实硬度、脆度及乙烯释放量与各种酶活性的相关性分析结果见表 1。果实硬度与果实脆度呈极显著正相关，与 β-Gal 呈显著或极显著正相关，与 PG、α-L-Af 及 AM 等 3 种酶活性多呈显著或极显著负相关，与 β-Xyl 在‘绵肉 2 号’株系中呈显著负相关，在其他 3 个株系中相关性不显著，与 PME 和 LOX 相关性不显著。

果实脆度与 PG 在绵肉株系果实中呈显著负相关，在脆肉株系果实中呈极显著负相关，与 β-Gal 在绵肉株系相关性不显著，在脆肉株系中呈极显著正相关，与 β-Xyl 在‘绵肉 1 号’株系中呈显著负相关，在其他 3 个脆肉株系中相关性不显著，与 PG、α-L-Af 和 AM 呈显著或极显著负相关，与 PME 和 LOX 相关性不显著。

乙烯释放量与果实硬度在绵肉株系果实中相关性不显著，在脆肉株系呈显著负相关，与 PG、α-L-Af、β-Xyl 及 AM 等 4 种酶活性大都呈显著或极显著正相关，与 LOX 在绵肉株系中呈极显著负相关，在‘脆肉 1 号’株系中呈显著负相关，在‘脆肉 2 号’株系中相关性不显著，与 PME 和 β-Gal 相关性不显著。

上述相关分析结果表明，‘富士’与新疆红肉苹果杂种 F<sub>1</sub> 群体绵肉和脆肉特性与 PG、α-L-Af 及 AM 等酶活性负相关。PG、α-L-Af、β-Xyl 及 AM 与乙烯释放量正相关。

表 1 ‘富士’× 新疆红肉苹果杂交后代 4 株系果实硬度、脆度和乙烯释放量与各果胶酶、糖苷酶、淀粉酶和脂氧合酶活性的相关系数

Table 1 The correlation coefficient of firmness, fracturability, ethylene production and related enzymes activity of four apple strains of the progenies of the cross of ‘Fuji’ and *Malus sieversii*

材料 Material	指标 Item	硬度 Firmness	脆度 Fracturability	PG	PME	β-Gal	α-L-Af	β-Xyl	LOX	AM
绵肉 1 号 Mianrou 1	硬度 Firmness	1	0.946**	-0.683	0.540	0.797*	-0.856**	-0.679	-0.392	-0.932**
	脆度 Fracturability	0.946**	1	-0.735*	0.353	0.622	-0.829*	-0.766*	-0.461	-0.930**
	乙烯 Ethylene	-0.699	-0.747*	0.947**	0.008	-0.183	0.857**	0.948**	0.928**	0.754*
绵肉 2 号 Mianrou 2	硬度 Firmness	1	0.923**	-0.865**	0.510	0.836**	-0.945**	-0.740*	-0.314	-0.925**
	脆度 Fracturability	0.923**	1	-0.775*	0.364	0.682	-0.864**	-0.669	-0.233	-0.939**
	乙烯 Ethylene	-0.639	-0.640	0.875**	-0.053	-0.273	0.816*	0.958**	0.887**	0.818*
脆肉 1 号 Cuirou 1	硬度 Firmness	1	0.935**	-0.915**	0.197	0.796*	-0.898**	-0.516	-0.517	-0.901**
	脆度 Fracturability	0.935**	1	-0.892**	0.135	0.848**	-0.848**	-0.447	-0.280	-0.904**
	乙烯 Ethylene	-0.807*	-0.768*	0.784*	0.200	-0.376	0.912**	0.781*	0.756*	0.717*
脆肉 2 号 Cuirou 2	硬度 Firmness	1	0.871**	-0.817*	0.507	0.764*	-0.840**	-0.587	-0.177	-0.895**
	脆度 Fracturability	0.871**	1	-0.848**	0.494	0.851**	-0.751**	-0.508	0.217	-0.655
	乙烯 Ethylene	-0.811*	-0.697	0.919**	-0.048	-0.338	0.874**	0.875**	0.457	0.768*

注：\*表示差异显著，\*\*表示差异极显著。

Note: \* means the significant level of 5% and \*\* means the significant level of 1%.

3 讨论

栽培苹果品种的果实成熟软化被认为是发生在果实发育后期一系列复杂生理生化反应过程，不同品种（基因型）间的软化机理存在明显差异（申曙光，1991；雷琴，2006；Luis et al., 2007；Jamil et al., 2012）。因此，进一步探讨不同品种果实成熟软化差异的生理和分子机制，对果实质地品质调控具有重要意义。杨力（2009）通过乙烯利处理‘秦冠’苹果的方式研究发现，乙烯可能参与了果实软化相关细胞壁酶基因的激活或表达，从而促进细胞壁酶的活性，来调控果实的成熟和软化；Ross（2011）年以‘皇家嘎啦’苹果为试材，通过抑制 PG 基因表达，发现 PG 不仅对果实的软化具有

重要作用,还可能影响果实质地的多汁性。刘美艳等(2012)研究发现,苹果果实的软化可能是 PG、PME、 $\beta$ -Gal、 $\alpha$ -L-Af 及 LOX 等多种基因同步、协同作用的结果。

在本研究中,‘富士’与新疆红肉苹果杂交  $F_1$  群体 2 个脆肉株系各个时期的果实硬度和脆度均极显著地高于 2 个绵肉株系,相关分析显示,果实硬度与果实脆度呈极显著正相关,硬度大的果实脆度也大。在幼果期和果实膨大期的果实乙烯释放量小,绵肉株系与脆肉株系间差异不明显,但果实硬度和脆度逐渐下降,且绵肉株系与脆肉株系比较,下降趋势更明显,与此同时,此期间的 2 个绵肉株系 PG、PME 和  $\beta$ -Gal 等酶的活性显著高于 2 株脆肉株系,所以推测在幼果期和果实膨大期的果实硬度及脆度的下降,可能是由于果实细胞的生长膨大,另外,绵肉株系较高的果胶降解酶和  $\beta$ -Gal 活性可能与其早期出现的绵肉性状有一定关系,还可能还存在另外一种调控机制,有待进一步研究。

在果实发育的后期,随着乙烯释放量的明显上升,果胶酶、糖苷酶、淀粉酶和脂氧合酶等酶活性逐步上升,果实硬度和脆度进一步下降,绵肉株系的果实软化酶明显高于脆肉株系,即果实发育中后期的乙烯释放速率的快速升高可能是引起果胶降解酶、糖苷酶及淀粉酶等多种酶基因的上调表达及其协同作用,从而导致绵肉株系软化变绵的原因。

总之,‘富士’与新疆红肉苹果杂种  $F_1$  群体的绵肉和脆肉特性一方面可能与果实发育前期细胞生长膨大和此过程中的细胞壁降解有关,也与后期乙烯诱导的多种果实软化酶活性上升有关。从整个发育过程来看,‘富士’与新疆红肉苹果杂种  $F_1$  群体绵肉和脆肉特性与乙烯释放速率、PG、 $\alpha$ -L-Af 及 AM 等酶的酶活性密切相关。因此,进一步探讨绵肉株系苹果乙烯信号传递及其对细胞壁降解酶等基因的调控网络,是今后研究的重点和切入点。

## References

- Abel Ortiza, Jordi Graellb, Isabel Laraa. 2011. Preharvest calcium applications inhibit some cell wall-modifying enzyme activities and delay cell wall disassembly at commercial harvest of ‘Fuji Kiku-8’ apples. *Postharvest Biology and Technology*, 62: 161 – 167.
- Ben Arie R, Kisler N, Frenkel C. 1993. Degradation and solubilization of pectin by  $\beta$ -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, Feng Tao, Zhang Yan-min, He Tian-ming, Feng Jian-rong, Zhang Chun-yu. 2007. Genetic diversity of volatile components in Xinjiang wild apple (*Malus sieversii*). *Journal of Genetic and Genomics*, 34 (2): 171 – 179.
- Chen Kun-song, Xu Chang-jie, Xu Wen-ping, Wu Min, Zhang Shang-long. 2003. Improved method for detecting lipoxigenase activity from kiwifruit and peach fruit. *Journal of Fruit Science*, 20 (6): 436 – 438. (in Chinese)
- 陈昆松, 徐昌杰, 许文平, 吴 敏, 张上隆. 2003. 猕猴桃和桃果实脂氧合酶活性测定方法的建立. *果树学报*, 20 (6): 436 – 438.
- Feng Tao, Zhang Hong, Chen Xue-sen, Zhang Yan-min, He Tian-ming, Feng Jian-rong, Xu Zheng. 2006. Genetic diversity of fruit morphological traits and content of mineral element in *Malus sieversii* (Ldb.) Roem. and its elite seedlings. *Journal of Plant Genetic Resources*, 7 (3): 270 – 276. (in Chinese)
- 冯 涛, 张 红, 陈学森, 张艳敏, 何天明, 冯建荣, 许 正. 2006. 新疆野苹果果实形态与矿质元素含量多样性以及特异性状单株. *植物遗传资源学报*, 7 (3): 270 – 276.
- Gross K C. 1982. A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide. *HortScience*, 17: 933 – 934.
- Jamil Harb, Nigel E Gapper, James J Giovannoni, Chris B Watkins. 2012. Molecular analysis of softening and ethylene synthesis and signaling pathways in a non-softening apple cultivar, ‘Honeycrisp’ and a rapidly softening cultivar, ‘McIntosh’. *Postharvest Biology and Technology*, 64: 94 – 103.



- Li Yu-nong. 2001. Researches of germplasm resources of *Malus* Mill. Beijing: China Agriculture Press: 20 - 134. (in Chinese)
- 李育农. 2001. 苹果属植物种质资源研究. 北京: 中国农业出版社: 20 - 134.
- Liu Chao-chao, Wei Jing-li, Xu Yu-ting, Jiao Qi-qing, Sun Hai-bing, Wang Chuan-zeng, Chen Xue-sen. 2011. Preliminary study on firmness and related physiological indices of three early-ripening apple cultivar during late development of the fruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (1): 133 - 138. (in Chinese)
- 刘超超, 魏景利, 徐玉亭, 焦其庆, 孙海兵, 王传增, 陈学森. 2011. 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. *园艺学报*, 38 (1): 133 - 138.
- Liu Mei-yan, Wei Jing-li, Liu Jin, Fang Long, Song Yang, Cui Mei, Wang Chuan-zeng, Chen Xue-sen. 2012. The regulation of 1-methylcyclopropene on softening and expression of relevant genes in 'Taishan Zaoxia' apple. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (5): 845 - 852. (in Chinese)
- 刘美艳, 魏景利, 刘金, 房龙, 宋杨, 崔美, 王传增, 陈学森. 2012. '泰山早霞' 苹果采后 1 - 甲基环丙烯处理对其软化及相关基因表达的影响. *园艺学报*, 39 (5): 845 - 852.
- Lei Qin. 2006. Characteristic study of quality changes during the apple ripening [Ph. 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. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Luis F, Goulao, Joao Santos, Isabel de Sousa, Cristina M, Oliveira. 2007. Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples. *Postharvest Biology and Technology*, 43: 307 - 318.
- Ma Qing-hua, Wang Gui-xi, Liang Li-song. 2011. Establishment of the detecting method on the fruit texture of Dongzao by puncture test. *Scientia Agricultura Sinica*, 44 (6): 1210 - 1217. (in Chinese)
- 马庆华, 王贵禧, 梁丽松. 2011. 质构仪穿刺实验检测冬枣质地品质方法的建立. *中国农业科学*, 44 (6): 1210 - 1217.
- Ross G Atkinson, Paul W Sutherland, Sarah L Johnston, Kularajathevan Gunaseelan, Ian C Hallett, Deepali Mitra, David A Brummell, Roswitha Schröder, Jason W Johnston, Robert J Schaffer. 2011. Down-regulation of POLYGALACTURONASE1 alters firmness, tensile strength and water loss in apple (*Malus × domestica*) fruit. *BMC Plant Biology*, 12: 129.
- 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 Xian-ze. 2002. Biochemical principles and methods of experimental techniques. Beijing: China 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.
- Wei Jian-mei. 2009. Study on physiological and molecular mechanism of fruit texture development and post-harvest regulation of apple (*Malus domestica* Borkh.) [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 魏建梅. 2009. 苹果 (*Malus domestica* Borkh.) 果实质地品质发育及采后调控的生理和分子基础 [博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- 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.
- Zhang Xiao-yan, Chen Xue-sen, Peng Yong, Wang Hai-bo, Shi Jun, Zhang Hong. 2008. Genetic diversity of phenolic compounds in *Malus sieversii*. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (9): 1351 - 1356. (in Chinese)
- 张小燕, 陈学森, 彭勇, 王海波, 石俊, 张红. 2008. 新疆野苹果多酚物质的遗传多样性. *园艺学报*, 35 (9): 1351 - 1356.
- 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.