

猕猴桃果实采后成熟衰老与植物生长调节物质的关系

张计育¹, 周振兴², 宣继萍¹, 贾晓东¹, 郭忠仁¹

(1. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014; 2. 江苏省农业委员会, 江苏 南京 210036)

摘 要:猕猴桃含有丰富的营养价值和独特的保健功能, 被誉为“水果之王”; 属于呼吸跃变型果实, 在采后贮藏过程中, 容易成熟软化; 植物生长调节物质在果实成熟衰老过程中起着非常重要的作用。现对植物生长调节物质与猕猴桃果实成熟衰老之间的关系进行了综述, 以其为今后猕猴桃果实采后机理以及果实贮藏保鲜技术的研究提供参考。

关键词:猕猴桃; 成熟; 衰老; 植物生长调节物质

中图分类号: S 663.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)24-0228-04

猕猴桃属于猕猴桃科 (Actinidiaceae) 猕猴桃属 (*Actinidia*) 落叶藤本果树。我国是猕猴桃属植物的起源和分布中心, 种质资源极为丰富, 全世界猕猴桃有 66 个种, 我国就有 62 个^[1]。猕猴桃含有丰富的营养价值和独特的保健功能, 尤其是维生素 C 含量极高, 所以被誉为是“水果之王”^[2]。猕猴桃属于典型的呼吸跃变型水果, 在常温下的贮藏时间最多为 12 d, 果实采收后的软化和腐烂问题严重制约着猕猴桃产业化发展。近年来, 关于猕猴桃的采后贮藏和保鲜进行了较为广泛的研究。猕猴桃果实的软化后熟涉及到呼吸、酶、激素以及植物生长调节物质等各个方面。植物生长调节物质在促进和延缓猕猴桃果实成熟软化过程中具有非常重要的作用。现就植物生长调节物质和猕猴桃采后成熟衰老之间的机理进行综述。

1 乙烯

乙烯作为一种植物激素, 在种子萌发、花诱导、果实成熟、器官衰老和脱落等许多生命过程中起着非常重要的作用^[3-6]。乙烯在植物体内的生物合成途径是: 蛋氨酸-甲基腺苷蛋氨酸 (SAM, S-adenosylmethionine) 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)-乙烯, 其中 ACC 合成酶 (ACS) 催化 SAM 合成 ACC, 而 ACC 氧化酶 (ACO) 则将 ACC 转变为乙烯。ACS 和 ACO 是调控乙烯合成的 2 个关键酶^[7-8]。

猕猴桃果实是典型的呼吸跃变型果实, 其软化进程可分为 2 个明显的阶段, 果实采后跃变过程中乙烯大量生成均发生在果实软化后期, 其乙烯高峰出现时, 果实已达到可食程度, 说明乙烯主要是加速了快速软化阶段的果实软化进程^[9]。外源乙烯处理并未通过促进果实内源乙烯的合成, 从而调控猕猴桃果实软化进程^[10]。猕猴桃果实对乙烯极为敏感, 比番茄、苹果、桃等果实的乙烯敏感性要高, 0.1 $\mu\text{L/L}$ 的外源乙烯可加速气调贮藏猕猴桃果实后熟软化进程^[11]。

果实脂氧合酶 LOX 活性的增强和乙烯生物合成呈正相关。猕猴桃果实 LOX 活性增加先于自由基产生和乙烯生物合成, LOX 反应底物 LA 处理可增强其活性, 加速果实乙烯跃变^[12]。LOX 活性抑制剂桔丙酮 (nPG) 和去甲二氢愈创木酸 (NDGA) 均可显著抑制果实中乙烯生物合成^[13]。乙烯信号转导阻断剂 1-甲基环丙烷 (1-MCP) 和水杨酸衍生物乙酰水杨酸 (ASA) 处理均可显著抑制猕猴桃果实 LOX 活性, 进而减少乙烯生成^[14-15]。Zhang B 等^[16]从猕猴桃中分离了 6 个脂氧合酶基因家族成员, *AdLox1* ~ *AdLox6*, 在 20℃ 条件下, 猕猴桃果实成熟衰老进程中, *AdLox1* 和 *AdLox5* 表达随乙烯积累呈增加趋势, 而 *AdLox2*、*AdLox3*、*AdLox4* 和 *AdLox6* 转录本在果实后熟软化过程中趋于下降。外源乙烯处理显著加速果实后熟软化进程, 诱导 LOX 活性上升和 MDA 含量增加, 促进了 *AdLox1* 和 *AdLox5* 表达水平增强, 而 *AdLox2*、*AdLox3*、*AdLox4* 和 *AdLox6* 的转录本则被明显抑制^[16-17]。所以, 在乙烯处理条件下, 脂氧合酶基因家族成员表现出不同的表达模式。LOX 催化生成的超氧自由基和氢过氧化物均可能参与了乙烯的生物合成^[12-14]。张玉等^[14]研究认为外源乙烯处理显著降低果实组织中 SA 水平, 促进 LOX 和 AOS 活性的增加, 促使 O_2^- 积累, 增加了细胞膜透性, 促使乙烯跃变提前

第一作者简介: 张计育 (1982-), 男, 博士, 助理研究员, 现主要从事果树遗传育种及分子生物学研究工作。

责任作者: 郭忠仁 (1960-), 男, 研究员, 现主要从事果树种子资源收集和分子生物学研究工作。

基金项目: 江苏省农委农业三新工程资助项目 (sx(2011)248)。

收稿日期: 2011-10-10

到来,加速了果实的成熟软化。

乙烯在果实后熟衰老进程中起着非常重要的作用,通过基因工程调控果实乙烯合成相关基因可有效地抑制果实乙烯合成,进而调控果实的后熟进程,但这些转基因果实并不能完全抑制乙烯生成。因此在乙烯合成机制的研究基础上,进一步研究乙烯信号转导途径,对控制果实衰老具有非常重要的意义。目前,关于乙烯信号转导方面已有较为深入的研究^[18-20]。乙烯受体是乙烯信号转导途径的第一级元件,是一类具有乙烯结合能力的与细菌双组分信号转导系统相似的蛋白家族。目前,科研工作者已经从许多物种中分离了乙烯受体元件。已有研究认为乙烯受体作为负反馈调控因子参与了乙烯信号转导。Yin X R等^[21]研究认为在猕猴桃中至少含有5个乙烯受体元件,并发现*AdETR1*表达水平受外源和内源乙烯下调,不同于番茄等果实。根据乙烯受体负反馈调控理论,认为*AdETR1*转录本水平下降导致其对乙烯信号转导抑制效果的减弱,进而活化整个信号转导途径,由此推测*AdETR1*可能是猕猴桃乙烯受体家族中调控乙烯信号转导的关键成员。猕猴桃果实*AdERS1b*对乙烯不敏感,其表达模式与果实软化密切相关;而其它3个乙烯受体基因(*AdETR2a*、*AdETR2b*和*AdERS1c*)的转录水平均随猕猴桃果实乙烯跃变而积累^[21]。猕猴桃*AdETR1*可能通过与CTR1以外的蛋白作用参与成熟进程,而*AdERS1b*可能通过CTR1途径的乙烯信号转导方式调控猕猴桃果实软化进程。

1-MCP是一种乙烯受体抑制剂,它能不可逆地作用于乙烯受体,从而阻断与乙烯的正常结合,抑制其所诱导的与果实后熟相关的一系列生理生化反应。付永琦等^[22]利用1-MCP对‘金魁’美味猕猴桃果实进行处理,显著地降低了果实的硬度、维生素C含量的下降速率,强烈地抑制了乙烯的生成速率和呼吸速率,延缓了果实淀粉酶、氯霉素乙酰转移酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性高峰的到来,延长了果实的贮藏寿命,很好地保持了果实品质。唐燕等^[23]利用0.5 μL/L 1-MCP处理室温贮藏(20℃)‘海沃德’猕猴桃果实,试验结果表明,1-MCP处理能有效延缓贮藏期间果实的硬度、可滴定酸含量、维生素C含量的下降,显著降低二者的乙烯释放速率和呼吸强度及其峰值,提高果实的POD、CAT和SOD活性。1-MCP能够明显延长猕猴桃果实的贮藏时间,表现出显著的保鲜效果。综上所述,1-MCP在猕猴桃果实贮藏保鲜过程中具有非常重要的作用。

2 脱落酸

脱落酸(ABA)在植物衰老过程中起着非常重要的作用,可能参与了果实软化的启动过程。ABA一方面可以通过增强水解酶的活性,另一方面可以刺激乙烯的生成间接的对果实成熟过程中的软化起促进作用。已有研究表明,在许多果实的发育后期,ABA的含量

显著下降,而在果实成熟衰老过程中,ABA含量增加,形成一个高峰,随后下降^[24-25]。陈金印^[26]对美味猕猴桃‘金魁’果实进行了ABA的分析,认为猕猴桃果实内源ABA在采前已经完成,采后ABA先是不断下降,而后略有上升,最后又下降。外源ABA处理能有效的促进果实内源ABA的积累,ABA处理可以促进果实的呼吸和乙烯释放,加速果实硬度的下降和后熟衰老。

3 水杨酸

水杨酸(Salicylic acid, SA)作为一种植物内源激素,在植物生长发育、抗逆尤其在抗病过程中起着非常重要的作用,可以诱导系统获得抗病性^[27]。近年来的研究认为,SA在植物果实成熟衰老过程中也是至关重要的。猕猴桃果实内源SA含量与果实软化进程呈正相关。在20℃贮藏条件下,猕猴桃果实软化过程中,SA含量趋于下降。但是在0℃条件下,内源SA含量较高,果实硬度较高。张玉等^[29]研究ASA处理促使组织内源SA水平的增加,抑制了LOX、ACC合成酶、ACC氧化酶和丙二烯氧化酶的活性以及乙烯的生成。降低了O₂⁻生成速率,维持细胞膜稳定性,进而抑制乙烯生物合成或推迟乙烯跃变的到来,延缓了果实的软化过程,推测组织中的内源SA水平与细胞膜脂氧化作用密切相关,外源ASA处理可能作为一种O₂⁻等自由基的消除剂或是细胞膜稳定剂在组织成熟过程中起作用,并且通过负反馈调控LOX途径,延缓果实的成熟衰老^[14,28]。ASA同样可抑制淀粉酶活性、己糖积累、蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性增加,酸性转化酶(AI)活性下降,延缓蔗糖含量增加^[29]。

4 一氧化氮

一氧化氮(NO)作为一种生物小分子物质,参与植物生长发育、成熟衰老、植物抗逆性等许多生理过程,在果实贮藏过程中起着非常重要的作用。在果实成熟与衰老过程中,内源NO含量降低,乙烯含量升高。已有研究表明,NO参与乙烯的释放。Leshem等^[30]在试验中发现,果实可以产生NO,未成熟果实中NO的含量比成熟果实中NO的含量高,随着果实的成熟与衰老,内源NO的水平降低,乙烯的含量升高。外源NO处理可以提高组织中NO的水平,抑制乙烯的产生,延缓成熟和衰老,延长货架期。NO处理还可以延缓果实呼吸高峰的出现和降低果实的呼吸峰值。用NO熏蒸肥城桃,显著的延长了室温和冷藏条件下的肥桃贮藏期。NO抑制了肥城桃呼吸速率和乙烯释放,并且影响了肥桃细胞壁组成和代谢,并减轻了贮藏过程中的膜脂过氧化作用,改变了细胞膜的脂肪酸组成和含量^[31]。20 μL/L外源NO处理可以显著的延迟猕猴桃乙烯峰值的出现,并且可以降低乙烯峰值,但是NO浓度过高时,加速了乙烯峰值的出现。20 μL/L NO熏蒸处理能较好地延缓猕猴桃果实可溶性糖含量的增加和可滴定酸含量的降低、延缓果实维生素C含量的下降,

降低了猕猴桃果实中 LOX 和 POD 活性,延缓了 CAT 活性的降低,显著提高了 SOD 活性,且显著降低了猕猴桃果实中氢过氧化物的含量^[32]。

5 其它

猕猴桃果实采后内源吲哚乙酸(IAA)的含量随着后熟进程呈显著下降变化,随着 IAA 水平的不断下降,出现乙烯跃变峰^[33]。用 IAA 处理猕猴桃果实能够促进内源 IAA 的积累,使内源 ABA 的水平下降,并推迟内源 ABA 峰值的出现,从而延缓了果实的后熟软化^[34]。

6 结语

果实成熟软化一直是科研工作者研究的重点和热点问题,关于其机理的研究主要集中在草莓和番茄等模式植物中,也取得了一些较为显著的进展。但是,果实成熟软化是一个复杂的生理生化过程,导致果实软化的关键酶和基因还不清楚,果实软化过程中的信号转导途径还不明朗。并且在不同的树种中,果实软化过程中发生的变化差异很大,说明在某一树种中得出的科研成果并不一定适合于其它树种,这就要求科研工作者对每一个树种甚至是品种进行研究。猕猴桃是呼吸跃变型果实,关于植物生长调节物质和果实成熟软化衰老之间的关系是相当复杂的,还需要进行更加深入的研究,同时挖掘和利用植物生长调节物质,从而提高猕猴桃的贮藏时间。随着分子生物学及其它相关分析技术的飞速发展,猕猴桃果实成熟软化机制会得到进一步验证,进而为果实采后调控,延长货架寿命提供科学依据。

参考文献

- [1] 张玉星. 果树栽培学各论(北方本)[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2003:338-339.
- [2] 朱鸿云. 猕猴桃[M]. 北京:中国林业出版社,2009.
- [3] Bleecker A B, Kende H. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2000(16): 1-18.
- [4] Oetiker J H, Yang S F. The role of ethylene in fruit ripening[C]. *Acta Hort. (ISHS)*, 1995, 398: 167-178.
- [5] Reid M S. The role of ethylene in flower senescence[C]. *Acta Hort. (ISHS)*, 1989, 261: 157-170.
- [6] Dolan L. The role of ethylene in the development of plant form[J]. *J. Exp. Bot.*, 1997, 307(48): 201-210.
- [7] Yang S F, Hofman N E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1984, 35: 155-189.
- [8] 徐昌杰, 陈昆松, 张上隆. 乙烯生物合成及其控制研究进展[J]. *植物学通报*, 1998, 15(增刊): 54-61.
- [9] 陈昆松, 张上隆, 吕均良, 等. 脱落酸、吲哚乙酸和乙烯在猕猴桃果实后熟软化进程中的变化[J]. *中国农业科学*, 1997, 30(2): 54-57.
- [10] 陆定忠, 傅家瑞, 宋松泉. 植物衰老及其调控[M]. 北京:中国农业出版社, 1997.
- [11] McDonald B, Harman J E. Controlled-atmosphere storage of kiwifruit. I. effect on fruit firmness and storage life[J]. *Scientia Horticulturae*, 1982, 17: 113-123.
- [12] 许文平, 陈昆松, 李方, 等. 脂氧合酶、茉莉酸和水杨酸对猕猴桃

果实成熟软化进程中乙烯生物合成的调控[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(6): 507-514.

- [13] Sheng J, Luo Y, Wainwright H. Studies on lipoxygenase and the formation of ethylene in tomato[J]. *J. Hort. Sci. Biotech.*, 2000, 75: 69-71.
- [14] Zhang Y, Chen K S, Chen Q J, et al. Effects of acetylsalicylic acid (ASA) and ethylene treatments on ripening and softening of postharvest kiwifruit[J]. *Acta Bot. Sin.*, 2003, 45(12): 1447-1452.
- [15] Zhang Y, Chen K S, Zhang S L, et al. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit[J]. *Postharvest, Biol. Teehool.*, 2003, 28: 67-74.
- [16] Zhang B, Chen K S, Bowen J, et al. Differential expression within the LOX gene family in ripening kiwifruit[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57: 3825-3836.
- [17] 张波. 猕猴桃脂氧合酶基因家族成员的功能解析及其调控[D]. 杭州:浙江大学, 2007.
- [18] Cara B, Giovannoni J J. Molecular biology of ethylene during tomato fruit development and maturation[J]. *Plant Science*, 2008, 175: 106-113.
- [19] Pech J C, Bouzayen M, Latch A. Climacteric fruit ripening: Ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit[J]. *Plant Science*, 2008, 175: 114-120.
- [20] Bennett A B, Labavitch J M. Ethylene and ripening—regulated expression and function of fruit cell wall modifying proteins[J]. *Plant Science*, 2008, 175: 130-136.
- [21] Yin X R, Chen K S, Allan A C, et al. Ethylene-induced modulation of genes associated with the ethylene signaling pathway in ripening kiwifruit[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59: 2097-2108.
- [22] 付永琦, 陈明, 刘康, 等. 1-MCP 二次处理对猕猴桃果实采后生理生化及贮藏效果的影响[J]. *果树学报*, 2007, 24(1): 43-48.
- [23] 唐燕, 杜光源, 马书尚, 等. 1-MCP 对室温贮藏下不同成熟度猕猴桃的生理效应[J]. *西北植物学报*, 2010, 30(3): 564-568.
- [24] 李杰芬, 谭志一, 张崇浩, 等. 苹果后熟过程中内源脱落酸与乙烯的变化[J]. *植物生理学报*, 1987, 13(1): 87-93.
- [25] 阮晓, 王强, 周疆明, 等. 香梨果实成熟衰老过程中 4 种内源激素的变化[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(5): 402-406.
- [26] 陈金印. 美味猕猴桃‘金魁’果实后熟软化机理及其调控技术研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2004.
- [27] Durrant W E, Dong X. Systemic acquired resistance[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2004, 42: 185-209.
- [28] 张玉, 陈昆松, 张上隆. 乙酰水杨酸处理对猕猴桃果实成熟衰老的影响及其作用机理[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2002, 28(6): 425-432.
- [29] 张玉, 陈昆松, 张上隆, 等. 猕猴桃采后果实成熟衰老过程中糖代谢的调节及其机制[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2004, 30(3): 317-324.
- [30] Leshem Y Y, Wills R B H, Ku V V V. Evidence for the function of the free radical gas nitric oxide(NO[•])—as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1998, 36: 825-833.
- [31] Zhu S H, Zhou J. Effects of nitric oxide on fatty acid composition in peach fruits during storage[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 9447-9452.
- [32] 刘孟臣. 一氧化氮处理提高肥城桃和猕猴桃贮藏性能生理机制的研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2007.
- [33] 陈昆松, 张上隆. 脱落酸、吲哚乙酸和乙烯在猕猴桃果实后熟软化进程中的变化[J]. *中国农业科学*, 1997, 30(2): 54-57.
- [34] 陈昆松, 李方. ABA 和 IAA 对猕猴桃果实成熟进程的调控[J]. *园艺学报*, 1999, 26(2): 81-86.

玻璃化法超低温保存技术及其研究进展

石 茹^{1,2}, 王 芳¹, 王 舰¹

(1. 青海省农林科学院 生物技术研究所, 教育部青藏高原生物技术重点实验室, 青海 西宁 810016; 2. 青海大学, 青海 西宁 810016)

摘 要:玻璃化法超低温保存技术是一门新兴的生物技术,是目前植物种质资源长期稳定保存的理想方法。现对玻璃化法超低温保存的原理、优点,对玻璃化法保存的程序、影响因素、关键技术的最新成果和研究进展进行综述,并对其今后的发展进行了展望。

关键词:超低温保存;玻璃化法;植物种质资源;研究进展

中图分类号:Q 943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)24-0231-05

植物种质资源作为一种可再生资源,是人类赖以生存的最重要自然资源之一,是人类食物、药物及工业原料的重要来源,也是农业可持续发展的基础。长期以来,种质资源的多样性受到人为破坏^[1],特别是近些年,随着自然资源、生态环境的破坏以及新品种、杂交种的推广,种质资源流失越来越严重^[2]。目前世界上约有 25 万种植物,其中就有 2~2.5 万种植物日益锐减并面临灭绝的严重威胁;在我国分布的高等植物有 3 万多种,其中 4 000~5 000 种受到灭绝的威胁,占总数的 12%~15%^[3]。如今,随着植物育种技术的不断进步,植物种质资源向简单化、单一化发展,人们对商业利益的追求使得植物遗传基础越来越狭窄。因此,

保存植物种质资源已经刻不容缓。

1985 年玻璃化法超低温保存技术第一次成功的应用到小鼠胚胎的保存中,证明这项技术具有可操作性^[4]。1989 年 Uragami 等和 Langis 等首次报道玻璃化保存法在植物中的应用,证实了应用玻璃化法冻存植物种质材料同样是可行的^[5]。玻璃化法超低温保存将为植物种质资源有用基因的长期利用和保护提供一条有效途径,是目前植物种质资源保存技术中一种比较理想的方法。

1 玻璃化法超低温保存

玻璃化法超低温保存是在冰冻前,用由一定比例的渗透性和非渗透性保护剂组成的玻璃化溶液处理材料,使之与玻璃化溶液在足够快的降温速率下过冷到玻璃化转变温度,最终固化成无定形的玻璃化状态的过程,并以这种状态在低温下保存。

1.1 玻璃化法超低温保存的原理

在超低温条件下(-196℃),所有细胞生长过程和代谢活动几乎都会停止进行,植物材料的生物学状态相对稳定^[6],并且材料经过高浓度玻璃化保护剂处理后,快速投入液氮时,细胞内水分子和保护剂来不及形

第一作者简介:石茹(1988-),女,在读硕士,现主要从事马铃薯遗传育种研究工作。

责任作者:王舰(1964-),男,硕士,研究员,现主要从事马铃薯遗传育种研究工作。

基金项目:青海省科学技术厅资助项目(2008-N-164);马铃薯产业技术体系资助项目(GWZJ-2)。

收稿日期:2011-10-08

Research on the Relationship Between Plant Growth Regulating Substances and Kiwifruit Fruit Post Harvest Senescence Process

ZHANG Ji-yu¹, ZHOU Zhen-xing², XUAN Ji-ping¹, JIA Xiao-dong¹, GUO Zhong-ren¹

(1. Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014; 2. Jiangsu Agriculture Commission, Nanjing, Jiangsu 210036)

Abstract: Kiwifruit, known as the 'king of fruits', is rich in nutritional value and unique healthy features. Kiwifruit which belong to climacteric type was easy to soften and senescence in the process of post-harvest storage. Plant growth regulators play an important role in fruit ripening and senescence. The relationship of plant growth regulators and kiwifruit ripening and senescence were reviewed, in order to provide a reference for studying the mechanism of kiwifruit post-harvest storage and preservation technology in future.

Key words: Kiwifruit; ripening; senescence; plant growth regulators