

# 脱落酸对桃果实成熟软化和乙烯生物合成的影响

刘廷旭, 罗川, 赵彩平, 韩明玉

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**以“白丽”桃为试材, 分析了果实室温条件下贮藏过程中外源 ABA(脱落酸)处理和 NDGA(去甲二氢化愈创木酸, ABA 生物合成抑制剂)处理后多聚半乳糖醛酸酶、果胶甲酯酶、ACC 合成酶和 ACC 氧化酶含量的变化, 探讨了在室温贮藏条件下 ABA 对果实成熟软化和乙烯生物合成的影响。结果表明: 外源 ABA 处理可以提高多聚半乳糖醛酸酶和果胶甲酯酶的活性, 加速果实硬度软化进程。外源 ABA 处理可以提高 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶的活性, 使果实乙烯释放量增加并且乙烯释放高峰提前出现。而 NDGA 处理则可以抑制多聚半乳糖醛酸酶的活性, 果胶甲酯酶活性与清水相比虽然有降低, 但抑制效果不显著。NDGA 对果实硬度下降也有延缓作用。NDGA 可以抑制 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶的活性, 从而降低乙烯释放量并且使乙烯释放高峰延时出现。

**关键词:**桃; ABA; 成熟软化; 乙烯; ACC

**中图分类号:**S 662.109<sup>+</sup>.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)20-0134-04

桃不耐贮运及货架期短的特性直接影响桃经济效益和果实的食用品质。揭示桃成熟软化机理及其相关影响因素对提高桃的耐贮性能和延长货架期具有重要的现实意义。对于桃成熟软化机理的研究前人已取得重要进展, Guo 等建立了植物乙烯信号转导的基本路径, 即乙烯→乙烯受体→CTR1→EIN2→EIN3/EIL→ERF1→乙烯反应。桃成熟软化过程中乙烯生物合成相关酶, 如 ACC 合成酶、ACC 氧化酶、ACC 脱氨酶、SAM(硫腺苷甲硫氨酸)合成酶、SAM 水解酶等已被克隆并做了相关的功能分析<sup>[1-3]</sup>。ABA 即脱落酸是植物生长发育过程中重要的内源调控因子, 可能同时参与了跃变型和非跃变型果实的成熟进程。已有研究表明 ABA 可能触发了跃变型果实番茄中乙烯的大量合成并启动其成熟进程<sup>[4-5]</sup>。在非跃变型果实葡萄上也已证明 ABA 与其始熟有关<sup>[6-7]</sup>。刘丙花等<sup>[8]</sup>测定了‘红灯’甜樱桃果实发育过程中内源激素的动态变化, 显示出 ABA 与甜樱桃果实成熟密切相关。以上研究进展显示, 内源激素乙烯和 ABA 均对果实成熟软化具有调控作用, 但果实成熟软化过程中 ABA 和乙烯的相互作用及其关系演技报道较少。该研究以“白丽”桃果实为试材, 通过研究果实成熟软化过程中 ABA 及其抑制剂对乙烯释放速率、呼吸速率、胞壁降解相关酶及乙烯生物合成的关键酶 ACC

氧化酶和 ACC 合成酶<sup>[8-9]</sup>活性变化的影响, 为桃果实成熟软化过程中 ABA 和乙烯的关系提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为“白丽”桃成熟果实, 于 2010 年 8 月 3 日采自西北农林科技大学北校区桃种质资源圃, 选取大小均匀、成熟度一致、无病虫害和机械损伤的果实。

### 1.2 试验方法

采回当天分成 3 组, 每组 150 个果实, 第 1 组用 ABA(10 μmol/L)处理; 第 2 组用 ABA 抑制剂 NDGA(去甲二氢化愈创木酸, 以下简称 ABAl)(50 μmol/L)预处理 24 h 以阻断果实内 ABA 的生物合成; 第 3 组用清水对照处理。所有处理的果实全部放置在 25℃左右, 相对湿度 70%左右的室内贮藏。

### 1.3 项目测定

**1.3.1 果实硬度、呼吸速率和乙烯释放速率测定** 从处理当天开始每天取 15 个果实测定果实硬度、呼吸速率、乙烯释放速率。果实硬度采用 GY-1 型硬度计测定; 果实呼吸速率采用 Telaire 7001 型 CO<sub>2</sub> 分析仪测定; 乙烯释放速率采用 TRACE 气相色谱仪测定。

**1.3.2 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶活性变化测定** ACC 合成酶和 ACC 氧化酶活性用气相色谱仪测定, 具体操作方法参照 Avni 等<sup>[3]</sup>和 Woeste 等<sup>[1]</sup>的方法。

**1.3.3 细胞壁相关酶 PME 和 PG 活性变化测定** PME 活性测定参照 Hagerman 等<sup>[10]</sup>的方法进行, 反应体系包括: 2.0 mL 0.5%的果胶溶液、0.15 mL 0.01%溴麝香草

**第一作者简介:**刘廷旭(1985-), 男, 硕士, 研究方向为果树分子生物学。E-mail: liutingxu@yahoo.com.cn.

**收稿日期:**2012-07-02

蓝指示剂、0.75 mL H<sub>2</sub>O 和 0.1 mL 酶液;反应温度维持在 25℃,以双蒸水为对照测未加酶前 OD<sub>620</sub>,根据标准曲线求出产生的半乳糖醛酸含量,酶活性以  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  表示。PG 活性测定采用 DNS 法,以半乳糖醛酸含量作标准曲线<sup>[11]</sup>。

#### 1.4 数据分析

每天测定其成熟过程中相关指标,结果用 Excel 和 DPS 进行相关性和显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 ABA 处理对果实硬度的影响

由图 1 可知,桃果实采收后硬度下降速度较快,在贮藏的前 2 d,对照、ABA 处理和 NDGA 处理果实之间的硬度变化差异不大,而在贮藏中后期,ABA 处理果实硬度迅速下降,ABA 抑制剂 NDGA 处理果实硬度降低速率最慢,ABA、对照和 ABA 抑制剂处理分别在贮藏的第 5、6、7 天硬度降至最低。ABA 处理的果实从总体变化趋势中可以看出,硬度降低速率经历了一个由慢到快,再由快到慢的变化过程。前 2 d 平均每天下降 10 N/cm<sup>2</sup>,仅第 3 天就下降了 20 N/cm<sup>2</sup>。而第 4、5 天平均每天下降 15 N/cm<sup>2</sup>。而 CK 和 ABA 抑制剂处理的果实并没有表现出明显的这种变化趋势,总体呈逐渐下降的变化过程。

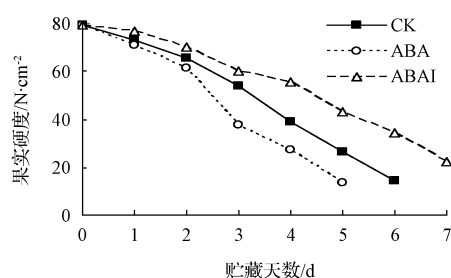


图 1 ABA 处理对果实硬度的影响

Fig. 1 Effect of ABA treatment on fruit firmness

### 2.2 ABA 处理对多聚半乳糖醛酸酶 PG 和果胶甲酯酶 PME 活性的影响

由图 2 可知,ABA 和对照处理果实在贮藏的前 2 d PG 活性均缓慢上升,从贮藏第 2 天开始 ABA 处理果实的 PG 活性急剧上升,在贮藏第 3 天便达到最大,比对照提早 1 d 出现峰值,且峰值显著高于对照和 NDGA 处理的果实。而 ABA 抑制剂处理果实在整个贮藏期间 PG 活性变化较为平缓,且在贮藏的前 4 d 其 PG 活性一直显著低于对照和 ABA 处理果实。

由图 3 可知,ABA、CK、ABA 抑制剂 NDGA 处理果实的 PME 酶活性变化在贮藏期间均一直呈上升趋势,在贮藏的最后 1 d PME 酶活性趋于稳定。但在贮藏中期(贮藏第 3~4 天)ABA、对照、NDGA 处理果实的 PME 酶活性存在显著差异,表现出 ABA 处理果实显著高于

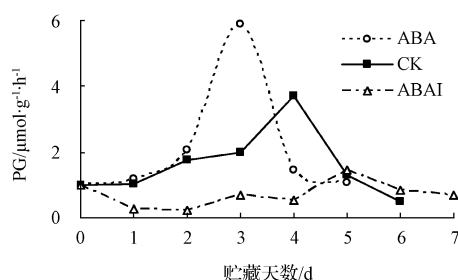


图 2 ABA 处理对 PG 活性的影响

Fig. 2 Effect of ABA treatment on PG enzyme

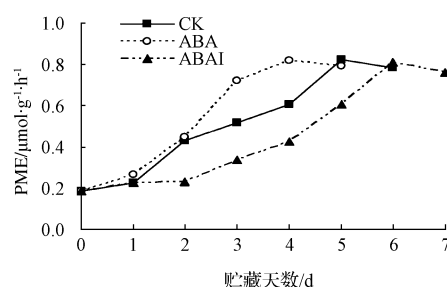


图 3 ABA 处理对 PME 酶活性的影响

Fig. 3 Effect of ABA treatment on PME enzyme

对照,对照果实显著高于 NDGA 处理果实。

### 2.3 ABA 处理对 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶活性的影响

由图 4 可知,ABA 处理的果实在贮藏前期 ACC 合成酶活性显著高于对照和 NDGA 处理果实,在贮藏第 3 天达到峰值,此后其活性迅速下降。ABA 抑制剂处理的果实在贮藏的前 4 d,ACC 合成酶活性变化缓慢升高,然后快速升高,在贮藏第 5 天出现活性峰值,且其峰值显著低于对照和 ABA 处理的果实。

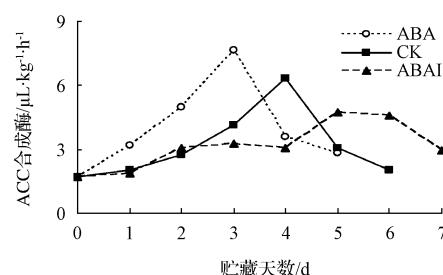


图 4 ABA 处理对 ACC 合成酶活性影响

Fig. 4 Effect of ABA treatment on ACC synthase

贮藏的前 2 d ACC 氧化酶活性变化在对照、ABA 处理和 NDGA 处理之间不存在明显差异,从贮藏第 2 天开始,ABA 处理的果实 ACC 氧化酶活性迅速升高,并于贮藏第 3 天达到峰值,而对照和 NDGA 处理果实的 ACC 氧化酶活性均呈缓慢上升趋势,并分别于贮藏第 4 和第 5 天出现活性峰值。且 ABA 抑制剂 NDGA 处理的果实其 ACC 氧化酶活性一直较低(图 5)。

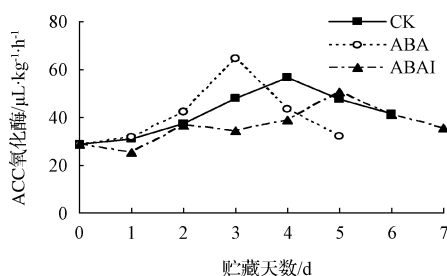


图5 ABA处理对ACC氧化酶活性影响

Fig. 5 Effect of ABA treatment on ACC oxidase

## 2.4 ABA处理对乙烯释放量和呼吸速率的影响

ABA处理和CK处理果实起始的乙烯释放为  $50 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 而ABA抑制剂处理的果实其起始的乙烯释放为  $32 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , ABA抑制剂处理的果实乙烯释放量前4 d的增长速率趋势平缓, 从第4天开始增速加快于第5天达最大值, 于第7天检测不到乙烯释放。而ABA处理的果实前3 d一直保持差不多的增速, 且增速明显高于ABA抑制剂, 于第3天就达到最大值, 且最大值约为ABA抑制剂最大值的2倍, ABA处理的果实第5天就检测不到乙烯的释放。CK处理的果实也是前几天保持较高的乙烯释放增速, 但要低于ABA处理的果实, 明显高于ABA抑制剂处理的果实, 乙烯释放的峰值晚于ABA处理, 于第4天达到, 峰值数值略小于ABA处理, 第4天以后乙烯释放迅速下降, 第6天检测不到乙烯释放(图6)。

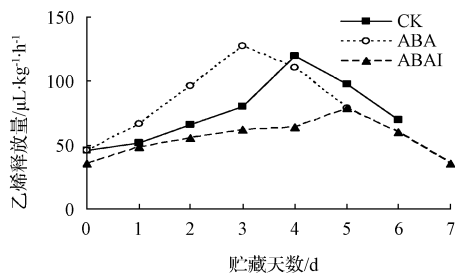


图6 ABA处理对乙烯释放量的影响

Fig. 6 Effect of ABA treatment on ethylene production

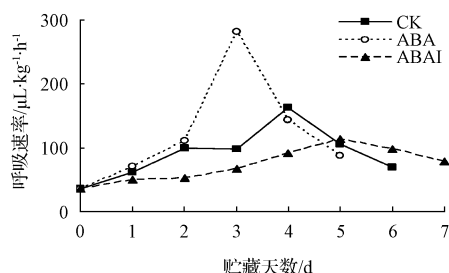


图7 ABA处理对呼吸速率影响

Fig. 7 Effect of ABA treatment on respiration rate

ABA和ABA抑制剂NDGA对呼吸速率的变化有显著影响。由图7可知, ABA处理后果实呼吸速率的峰值提早出现, 在贮藏第3天就达到高峰, 且峰值显著高于CK和ABA抑制剂处理后的峰值, 呼吸速率表现的尤为明显。ABA抑制剂NDGA处理后呼吸速率速率显著较低, 前3 d呼吸速率的变化趋势较为平缓, 虽然整体呈逐步上升趋势, 但与ABA处理相比其呼吸速率增速仅为ABA处理的5%。且其峰值推迟至贮藏第5天出现。由图7可知, 在第2、3天之间有一段近似于零增长的时间, 第3、4天出现呼吸峰值。

## 3 讨论

## 3.1 ABA对桃果实成熟软化的影响

果实硬度的降低是果实成熟的重要标志, 该试验关于ABA对果实硬度的部分结果表明, 施加外源ABA可以加速果实的硬度下降, 贮藏初期促进硬度下降的效果不明显, 起初硬度下降不快, 但到中后期则降速显著加快。这与ABA增加了胞壁降解酶多聚半乳糖醛酸酶和果胶甲酯酶的活性有关。外源ABA处理前期多聚半乳糖醛酸酶的活性提高不明显, 中后期活性急速提高, 而ABA处理的果实果胶甲酯酶的活性整个贮藏期间活性持续提高, 贮藏后期达到最高。多聚半乳糖醛酸酶是果实硬度降低的关键酶, 它可以使胞壁结构解体进而促进果实软化<sup>[12]</sup>。而果胶甲酯酶的作用被认为对果实的软化不起直接作用, 但它可以作用于多聚半乳糖醛酸残基的羧基基团去掉甲酯, 从而催化果胶酯酸转化为果胶酸更适于多聚半乳糖醛酸的解聚<sup>[11]</sup>。果胶甲酯酶的主要作用是通过多聚半乳糖醛酸酶来起作用的。该试验也证明了这点。随着果实贮藏时间的延续, 多聚半乳糖醛酸酶的活性有一个急速升高的阶段, 而这个阶段与桃果实硬度的急剧下降是相对应的。而果胶甲酯酶的活性在贮藏期间没有急剧升降的阶段, 全程变化呈比较平稳的增加。通过观察PG的变化曲线(图2)可以发现, 贮藏中后期PG酶活性又急速下降, 推测PG在桃果实成熟软化期间对果实硬度的起始降低发挥了重要作用, 而到中后熟期间可能PG没有继续起到直接作用, 中后熟期间可能有其它的因素如木葡聚糖内糖基转移酶和 $\alpha$ -阿拉伯呋喃糖苷酶和纤维素酶发挥了更为重要的作用<sup>[13-15]</sup>, 关于这一点有待进行深入的研究。综上所述, ABA加速果实硬度的降低是通过增加多聚半乳糖醛酸酶和果胶甲酯酶的活性来实现的。

## 3.2 ABA对乙烯生物合成的影响

乙烯是果实成熟软化的重要因素这一结论已被大家广泛接受, 近年来研究显示, ABA在果实成熟软化中也起到了重要作用, 许多研究显示, ABA启动了非跃变型果实的成熟软化进程<sup>[8]</sup>。该试验表明, 桃作为典型的跃变型果实, 外源ABA处理可以使桃果实乙烯释放高

峰的提前出现,这是因为 ABA 可以提高乙烯生物合成关键酶 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶的活性。而通过使用 NDGA 抑制 ABA 生物合成之后,乙烯生物合成关键酶 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶的活性也被抑制,顺理成章的也导致了乙烯释放高峰的延后和释放量的降低,这与许多其它研究的结果一致<sup>[16-18]</sup>。由于采样时间不合理,导致呼吸呈现单峰。

综上所述,ABA 在桃果实室温贮藏条件下,对果实软化的作用主要是通过调控胞壁降解酶多聚半乳糖醛酸酶和果胶甲酯酶的活性来实现的。ABA 促进果实成熟也是通过提高乙烯生物合成关键酶 ACC 合成酶和 ACC 氧化酶活性来提高乙烯释放量和促进乙烯释放高峰提前出现来实现的。

### 参考文献

- [1] Woeste K E, Ye C, Kieber J J. Two Arabidopsis mutants that overproduce ethylene are affected in the posttranscriptional regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic synthase[J]. Plant Physiol, 1999, 119: 521-529.
- [2] Rodrigues-Pousada R A, De Rycke R, Dedonder A, et al. The Arabidopsis 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene 1 expressed during early development[J]. Plant Cell, 1993, 5: 897-911.
- [3] Avni A, Bailey B A, Mattos A, et al. Induction of ethylene biosynthesis in Nicotiana glauca by a Trichoderma viride xylanase is correlated to the accumulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase transcripts[J]. Plant Physiol, 1994, 106: 1049-1055.
- [4] 殷学仁, 张波, 李鲜, 等. 乙烯信号转导与果实成熟衰老的研究进展[J]. 园艺学报, 2009, 36(1): 133-140.
- [5] Zhang M, Leng P, Zhang G L, et al. Cloning and function analysis of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) genes encoding a key enzyme during abscisic acid biosynthesis from peach and grape fruits[J]. J Plant Physiol, 2009, 166: 1241-1252.
- [6] Gabriel O, Sozzi, Adelea A.  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase Activity during development and ripening of normal and ACC synthase antisense tomato fruit[J]. Hort Science, 2002, 37(3): 564-566.
- [7] 张大鹏, 徐雪峰, 张子连, 等. 葡萄果实始熟机理的研究: 缓慢生长期外施激素和环剥的效应[J]. 园艺学报, 1997, 24(1): 1-7.
- [8] 刘丙花, 姜远茂, 彭福田, 等. 甜樱桃果实发育过程中激素含量的变化[J]. 园艺学报, 2007, 34(6): 1535-1538.
- [9] Woeste K E, Ye C, Kieber J J. Two Arabidopsis mutants that overproduce ethylene are affected in the posttranscriptional regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic synthase[J]. Plant Physiol, 1999, 119: 521-529.
- [10] Hagerman A E, Austin J. Continuous spectrophotometric assay for plant pectin methyltransferase[J]. J Agr Food Chem, 1986, 34(3): 440-444.
- [11] 李建国, 黄旭明. 裂果易发性不同的荔枝品种果皮中细胞壁代谢酶活性的比较[J]. 植物生理与分子生物学报, 2003, 29(2): 141-146.
- [12] Crooks P R, Geier D. Ultrastructure of tomato fruit ripening and the role of polygalacturonase isoenzymes in cell wall degradation[J]. Plant Physiol, 1983, 72: 1088-1093.
- [13] Nogawa M, Yatsui K. An  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase from Trichoderma reesei Containing a Noncatalytic Xylan-Binding Domain[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(9): 3964-3968.
- [14] 陈昆松, 李方, 张上隆. 称猴桃果实成熟进程中木葡聚糖内糖基转移酶水平的变化[J]. 植物学报, 1999, 41(11): 1231-1234.
- [15] 张正科. 内源乙烯与 1-MCP 互作对番茄成熟和细胞壁物质代谢的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 38(11): 201-209.
- [16] 任杰, 冷平. ABA 和乙烯与甜樱桃果实成熟的关系[J]. 园艺学报, 2010, 37(2): 199-206.
- [17] 任杰, 刘永霞. ABA 对番木瓜成熟软化的影响及其与乙烯的关系[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(5): 77-81.
- [18] 曹永庆, 冷平, 潘焄, 等. 脱落酸在桃果实成熟过程中的作用[J]. 园艺学报, 2009, 36(7): 1037-1042.

## Effect of ABA on Fruit Ripening and Ethylene Biosynthesis

LIU Ting-xu, LUO Chuan, ZHAO Cai-ping, HAN Ming-yu

(College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** With 'Baili' peach as experimental material, the change of PG, PMB, ACC synthase and ACC oxidase enzyme content were studied under different ABA and NDGA treatment on the fruit that store at room temperature. Explored the impact of ABA on fruit ripening and softening stored at room temperature and ethylene biosynthesis. The results showed that ABA treatment could increase the activity of the PG and PME, accelerate fruit softening. ABA treatment could increase the activity of ACC synthase and ACC oxidase. ABA treatment could make the fruit ethylene production and ethylene release peak appear in advance. NDGA treatment could inhibit the activity of PG. NDGA treatment had no significant effect on the activity of PME, but higher than water. NDGA could delay the fruit softening. NDGA could inhibit the activity of ACC synthase and ACC oxidase in order to reduce ethylene production and ethylene release peak delay appears.

**Key words:** peach; ABA; ripening and softening; enzyme; ACC