

硬肉桃果实成熟前后几种与果实软化相关的生理指标的变化

刘炳辉, 董晓颖, 李志军, 李培环*

青岛农业大学园艺学院, 山东青岛 266109

摘要: 比较桃品种‘川中岛白桃’(一般常规桃)和‘双久红’(硬肉桃)成熟前后20 d内果肉硬度、乙烯释放量和活性氧代谢有关指标的变化结果表明: 两品种桃成熟前后20 d内 O_2 产生速率、 H_2O_2 含量、丙二醛(MDA)含量和脂氧合酶(LOX)活性均持续上升, ‘双久红’果实明显低于‘川中岛白桃’; 在成熟前20 d内两者的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性均呈下降趋势, 果实成熟后20 d内SOD活性先上升后下降, 而POD活性则持续上升; 过氧化氢酶(CAT)活性在成熟前20~10 d内上升, 以后呈下降趋势。果实成熟后‘双久红’的SOD、POD和CAT活性均明显的高于‘川中岛白桃’。

关键词: 硬肉桃; 果实硬度; 乙烯; 活性氧代谢

Changes in Several Physiological Indexes Related to Fruit Softening of Crisp Peach Fruits before and after Ripening

LIU Bing-Hui, DONG Xiao-Ying, LI Zhi-Jun, LI Pei-Huan*

College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China

Abstract: The fruits of peach (*Prunus persica*) ‘Kawanakajima Hakuto’ and ‘Shuangjiuhong’ were used to study changes of fruit firmness, ethylene production and active oxygen metabolism during 20 days before and after ripening. The results showed that, the O_2 production rate, H_2O_2 content, MDA content and LOX activity continuously increased and these indexes of ‘Shuangjiuhong’ were obviously lower than those of ‘Kawanakajima Hakuto’. The activities of SOD and POD decreased during 20 days before ripening. The activity of SOD firstly increased then went down and the activity of POD continuously increased during 20 days after ripening. The activity of CAT increased from 20th to 10th before ripening, and afterward it decreased. The activities of SOD, POD and CAT of ‘Shuangjiuhong’ were higher those of ‘Kawanakajima Hakuto’ during 20 days after ripening.

Key words: crisp peach (*Prunus persica*); fruit firmness; ethylene; active oxygen metabolism

大多数品种桃的果实成熟后, 变软快, 硬肉性差, 货架期较短直接影响桃树栽培效益的提高。因此选育成熟后果实硬度大、软化慢和硬肉的新品种是桃树育种中的重要目标之一。已有的研究表明, 果实成熟软化与活性氧代谢密切相关, 膜质过氧化作用是引起果实软化的因素之一。以往对这方面的研究多是在果实采后贮藏期间进行的, 而对常温条件下硬肉桃果实成熟前后变软的研究甚少。本文中的‘双久红’是一个综合性状优良的硬肉桃新品种, 具有成熟后长期(30 d)挂树、果实硬度大、变软慢和耐贮运的特点(董晓颖等 2006)。本文以其果实为试材, 以常规品种‘川中岛白桃’为对照, 分别对两品种果实成熟前后20 d内的果肉硬度、乙烯释放量、丙二醛含量与活性氧代谢有关的生理指标进行了测定, 探讨硬肉桃品种果实成熟后软化慢的原因, 为硬肉桃新品种的选育提供参

考。

材料与方法

试验于2007年7月~2008年4月在本校进行。两品种桃[*Prunus persica* (L.)]果实均采自山东省临朐县龙岗镇双埠村桃试验园。试验园为丘陵地, 沙壤土, pH 6.8。‘川中岛白桃’为对照, ‘双久红’为试材, 两品种的砧木均为青州蜜桃(*Prunus persica* Stoke.)。树龄7年, 株行距4 m×3 m。随机区组设计, 两者均选10株生长势基本一致的树取样。从成熟(成熟期以两品种各自果实的发育天数计算: ‘川中岛白桃’120 d, ‘双久红’130 d)前20 d开始,

收稿 2008-06-03 修定 2008-09-09

资助 青岛农业大学科技攻关课题(6610315)。

* 通讯作者(E-mail: dxylph@163.com; Tel: 0532-86080193)。

每隔5 d取样一次,直到成熟后20 d结束。每次均随机取座果部位相同、成熟期一致的果实,洗净、切分,以液氮处理后,置于-70 超低温冰箱中保存备用。

测定果实硬度时,每次每品种现场选取果实5个,撕去果实胴部的皮,用HHP-2001型果实硬度计测定,重复3次,果实硬度为15个硬度值的平均值。乙烯释放量的测定参考Kato(2002)等方法,用岛津GC-2010气相色谱仪测定。脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)活性和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量分别参照Axelrod和Cheesebrough(1981)以及赵世杰和许长成(1994)文中的方法测定。 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量分别参照王爱国和罗广华(1992)以及林植芳(1988)文中的方法测定。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性测定参照李合生(2000)书中的方法,准确称取0.5 g左右新鲜样品,加入 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 7.8)的磷酸缓冲液,于冰浴中研磨匀浆,4 下以 $10\,000\times g$ 离心20 min,上清液为粗酶液;POD活性测定:反映体系包括2.9 mL $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液、1.0 mL 2% H_2O_2 、1.0 mL $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 愈创木酚和0.1 mL 酶液,用加热煮沸5 min的酶液为对照,反应体系加入酶液后,立即于37 水浴中保温15 min,然后迅速转入冰

浴中,并加入2.0 mL 2% 三氯乙酸终止反应,然后 $5\,000\times g$ 离心10 min,适当稀释后在470 nm波长下测定吸光度,以 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{min}^{-1}$ 表示POD酶活性;SOD用氮蓝四唑光还原法测定。过氧化氢酶(catalase, CAT)活性参照高俊凤(2006)书中的方法测定。

结果与讨论

1 果实成熟前后的果肉硬度和乙烯释放量的变化

果实硬度是反映果实软化的重要外在指标,呼吸跃变型果实成熟期间最显著的变化特征就是果实硬度的变化,乙烯在果实软化过程中起非常重要的调节作用。从图1可见,(1)两品种果实硬度在成熟前20 d下降较快,但差异不显著($P>0.05$)。‘双久红’果实成熟后下降较慢,成熟后20 d的硬度仍达 $4.90 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$;而‘川中岛白桃’则下降迅速,成熟后20 d的硬度仅有 $0.9 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。成熟后20 d内‘双久红’果实的硬度始终高于‘川中岛白桃’的,同期两者硬度差异极显著($P<0.01$)。(2)两品种桃果实成熟前乙烯释放量一直处于较低水平,成熟时两者的乙烯释放量分别为 $1.43 \mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 和 $0.25 \mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,‘双久红’成熟后第10天出现乙烯小高峰,而‘川中岛白桃’则在成熟后第5天出现乙烯高峰,峰值是‘双久红’的5.09倍。一般认为果实硬度变化与乙烯释放量有关系,这可能是‘双久红’果实

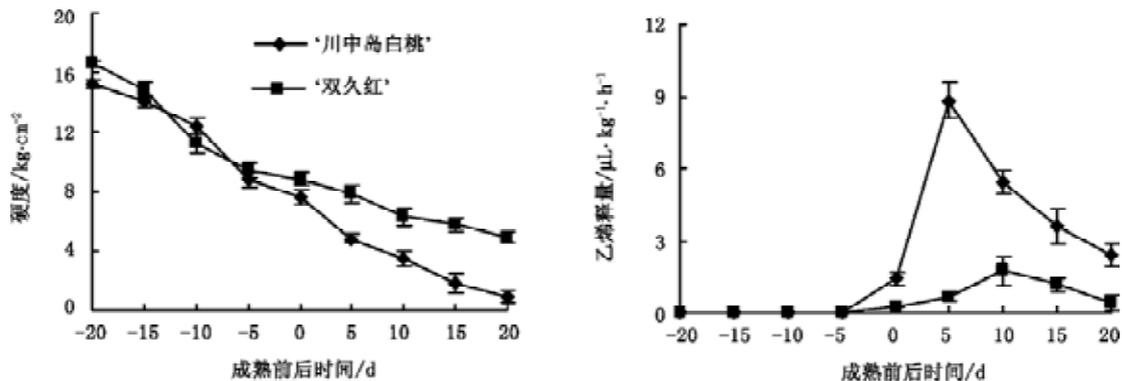


图1 两品种桃果实的硬度和乙烯释放量的变化

Fig.1 Changes in fruit hardness and ethylene production of two peach cultivars
负数表示果实成熟前,正数表示果实成熟后,下图同此。

成熟后变软慢的原因之一。

2 果实成熟前后的MDA含量和LOX活性变化

从图2可见,(1)两品种桃果实成熟前后的MDA含量均呈上升趋势,但‘川中岛白桃’果实的

始终高于‘双久红’的。‘川中岛白桃’果实的MDA含量升幅是‘双久红’的1.8倍。(2)成熟前‘川中岛白桃’果实的LOX活性显著高于‘双久红’的($P<0.05$),成熟后极显著高于同期‘双久红’的($P<0.01$)。

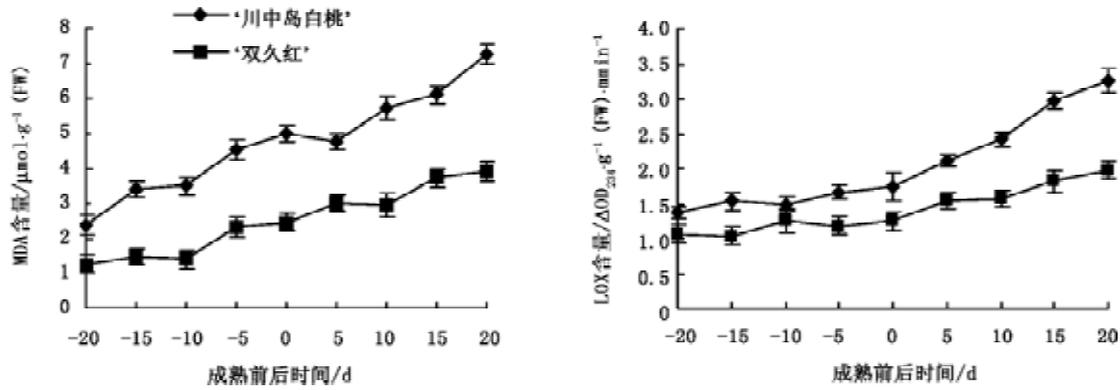


图2 两品种桃果实中MDA含量和LOX活性的变化
Fig.2 Changes in MDA content and LOX activity of two peach cultivars

LOX和MDA在果实成熟过程中都与膜质过氧化作用有关,膜质过氧化的启动需要LOX,MDA则是膜质过氧化的产物(Fobel等1987)。MDA能强烈地与细胞内各种成分发生反应,严重损伤酶和膜,膜电阻及膜的流动性降低,最终导致膜的结构及生理完整性的破坏,加速果实成熟软化(杨淑慎等2001)。相关分析表明,‘川中岛白桃’的果肉硬度与MDA含量和LOX活性均呈极显著负相关(相关系数分别为 $r=-0.95$ 和 $r=-0.95$)。‘双久红’的果肉硬度与MDA含量呈极显著负相关,与LOX活性呈显著负相关(相关系数分别为 $r=-0.87$ 和 $r=-0.71$)。因此认为较低的MDA含量和LOX活性可能是导致‘双久红’果实成熟后变软慢的因素

3 果实成熟前后 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量的变化
从图3可见,‘双久红’和‘川中岛白桃’果实的 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量的变化趋势基本上一

致,在果实成熟后两者均有一峰值出现,但高峰出现的时期不同,‘川中岛白桃’果实的高峰比‘双久红’的早5d出现。‘川中岛白桃’的 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量在出现高峰下降后又会升高但其值低于高峰期,‘双久红’的 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量则在出现高峰后保持下降趋势。在整个成熟过程中,‘双久红’果实的 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量始终低于‘川中岛白桃’的。已有研究表明: O₂· 可作为 ACO 的激活剂,而 H₂O₂ 做为一种中间产物参与蛋氨酸生成乙烯的过程,由此可引起乙烯释放量的增加(柯德森等1995)。本文中成熟后20d内‘川中岛白桃’的乙烯释放量与 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量均呈极显著相关(相关系数分别为 $r=0.89$ 和 $r=0.91$); ‘双久红’的乙烯释放量与 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量分别呈极显著和显著相关(相关系数分别为 $r=0.98$ 和 $r=0.79$)。

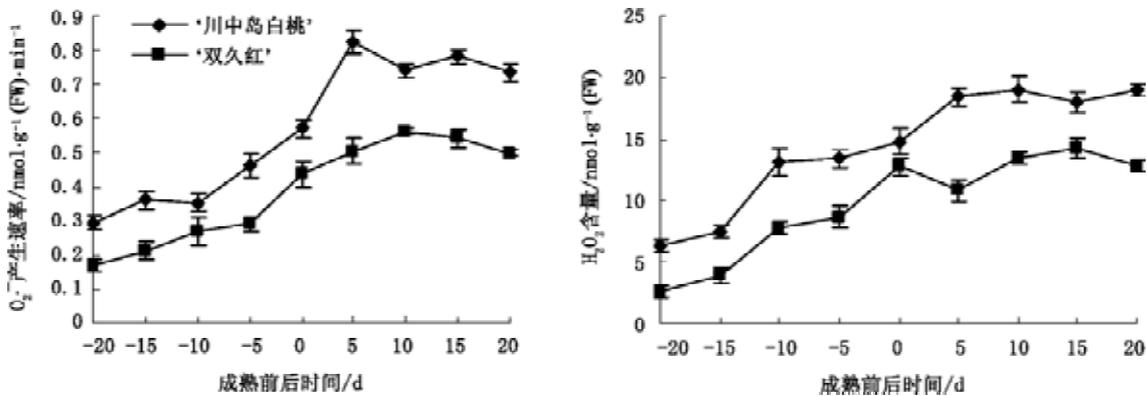


图3 两品种桃果实中 O₂· 产生速率和 H₂O₂ 含量的变化
Fig.3 Changes in O₂· reduction rate and H₂O₂ content of two peach cultivars

4 果实成熟前后 SOD、CAT 和 POD 活性的变化

从图4可见,成熟前两品种桃果实的SOD活性差异不显著($P>0.05$),‘川中岛白桃’的SOD活性略高于‘双久红’的。成熟后两品种的SOD活性均呈先上升后下降的趋势,但‘双久红’的SOD活性极显著高于同期‘川中岛白桃’的($P<0.01$)。SOD是生物体内专一清除 O_2^- 的酶,能减轻 O_2^- 对生物体的毒害(宋纯鹏等1998)。两品种桃SOD活

性在成熟后至第10天快速上升可能是因为 O_2^- 的急剧上升诱导了SOD活性的增强。POD与CAT协同作用清除植物体内的 H_2O_2 ,两品种桃果实的CAT活性在成熟前后20d内先上升后下降且变化趋势一致,两者之间差异不明显。两品种桃在成熟后POD活性急剧上升,成熟前后20d期间‘双久红’的POD活性极显著高于同期的‘川中岛白桃’($P<0.01$)。

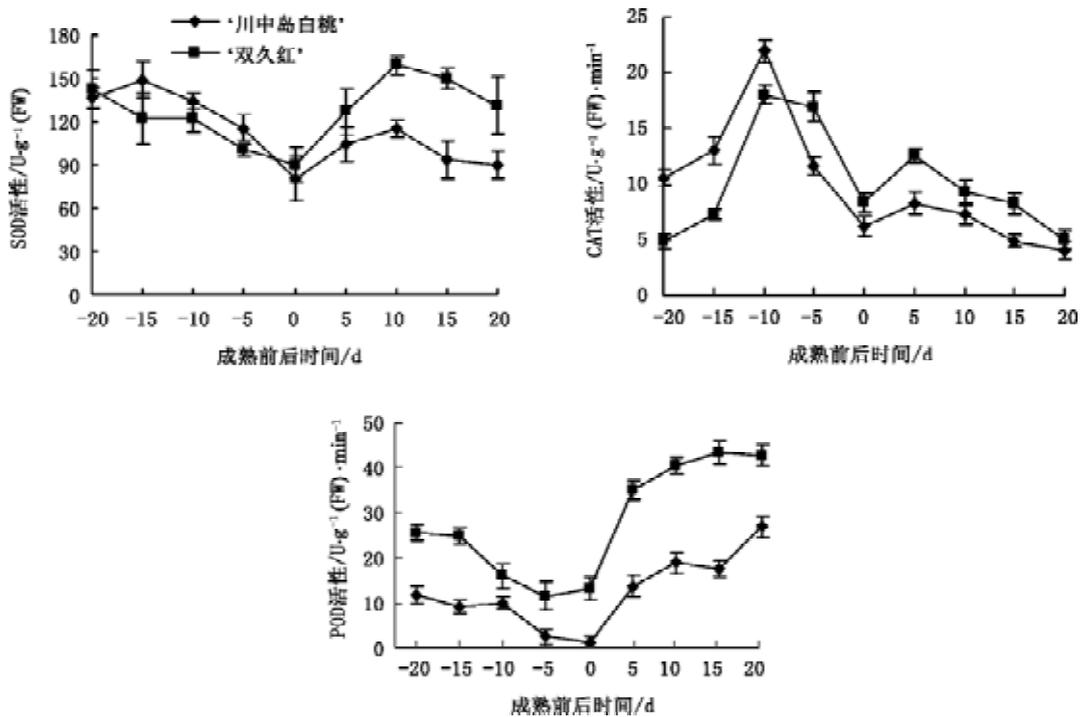


图4 两品种桃果实的SOD、CAT和POD活性变化

Fig.4 Changes in SOD, CAT and POD activities of two peach cultivars

参考文献

- 董晓颖, 李培环, 刘成连, 王永章, 原永兵, 王兆成(2006). 桃长采收期新品种双久红的选育. 中国果树, (2): 3~5
- 高俊凤(2006). 植物生理学实验指导. 高等教育出版社, 217~218
- 柯德森, 王爱国, 罗广华(1995). 氧自由基与乙烯形成的关系. 植物生理学通讯, 31 (6): 447~450
- 李合生(2000). 植物生理生化试验原理和技术. 高等教育出版社, 169~172
- 林植芳, 李双顺, 张东林, 刘淑娴, 李月标, 林桂珠, 陈绵达(1988). 采后荔枝果实中氧化和过氧化作用的变化. 植物学报, 30 (4): 382~387
- 宋纯鹏(1998). 植物衰老生物学. 北京: 北京大学出版社, 89~91
- 王爱国, 罗广华(1990). 植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系. 植物生理学通讯, 15 (1): 55~57
- 杨淑慎, 高俊凤(2001). 活性氧、自由基与植物的衰老. 西北植物学报, 21 (2): 215~220
- 赵世杰, 许长成, 邹琦, 孟庆伟(1994). 植物组织中丙二醛测定方法的改进. 植物生理学通讯, 30 (3): 207~210
- Axelrod B, Cheesebrough TM, Laakso S (1981). Lipoxygenase from soybeans EC 1.13.11.12 Linoleare: oxygen oxidoreductase. Methods in Enzymol, 82: 443~451
- Fobel M, Lynch DV, Thompson JE (1987). Membrane deterioration in senescing carnation flowers. Plant Physiol, 85: 204~211
- Kato M, Kamo T, Wang R, Nishikawa F, Hyodo H, Ikoma Y, Sugiura M, Yano M (2002). Wound-induced ethylene synthesis in stem tissue of harvested broccoli and its effect on senescence and ethylene synthesis in broccoli florets. Postharvest Biol Technol, 71 (2): 252~254