

# 1-MCP和低温处理对采后桃 *endo-PG* 家族基因表达的影响

姜航<sup>1,2</sup>, 张斌斌<sup>2</sup>, 宋志忠<sup>2</sup>, 郭绍雷<sup>1</sup>, 马瑞娟<sup>2</sup>, 俞明亮<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>南京农业大学园艺学院, 南京 210095; <sup>2</sup>江苏省农业科学院果树研究所·江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 南京 210014)

**摘要:**【目的】探寻 *endo-PG* 家族基因中与果实软化相关的主要功能基因对不同肉质桃在不同贮藏方式中软化的响应, 从分子水平上为桃贮藏保鲜提供理论依据。【方法】以软溶质‘霞晖5号’、硬溶质‘紫金红3号’、不溶质‘金童7号’和SH类型‘霞脆’4种肉质桃为试材, 分别研究常温(25℃)、常温+1-MCP和低温(4℃)处理过程中果实硬度的变化, 并分析13个 *endo-PG* 家族基因在货架期的表达差异。【结果】1-MCP显著抑制‘霞晖5号’和‘金童7号’贮藏前期果实硬度下降, 而对‘霞脆’和‘紫金红3号’效果不明显。低温下的‘紫金红3号’‘霞脆’和‘金童7号’果实硬度在整个试验贮藏期保持稳定, 但‘霞晖5号’果肉在低温贮藏的第2天便迅速软化。通过qRT-PCR对 *endo-PG* 家族中筛选出的13个基因的表达量进行分析, *Prupe.4G261900* 仅在‘霞晖5号’果实中高量表达。1-MCP、低温处理抑制 *Prupe.4G261900* 在‘霞晖5号’贮藏前2 d和4 d的表达, 1-MCP抑制 *Prupe.7G269200*、*Prupe.7G005500* 和 *Prupe.3G081700* 在不溶质桃中的表达, 对‘霞脆’果实相关基因的表达无显著影响。低温处理的‘金童7号’和‘霞脆’4个基因的表达量均较低。未检测到以上基因在‘紫金红3号’果实中的表达。【结论】1-MCP可能主要通过调控 *Prupe.4G261900* 的表达来延缓软溶质和不溶质果实货架期前期硬度的降低。低温可能通过抑制软溶质和不溶质果实 *Prupe.7G005500* 的前期表达, 进而缓解果实贮藏中的软化。

关键词: 桃; 软化; *endo-PG*; 1-MCP; 基因表达

中图分类号: S662.1

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2018)05-0521-10

## Effects of 1-MCP and low temperature treatments on the expression of *endo-PG* family genes in peach during post harvest storage

JIANG Hang<sup>1,2</sup>, ZHANG Binbin<sup>2</sup>, SONG Zhizhong<sup>2</sup>, GUO Shaolei<sup>1</sup>, MA Ruijuan<sup>2</sup>, YU Mingliang<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China; <sup>2</sup>Institute of Pomology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences·Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, Jiangsu, China)

**Abstract:** 【Objective】As a common hydrolase, polygalacturonase (PG) can be divided into endo-polygalacturonase (endo-PG, EC3.2.1.15) and exo-polygalacturonase (exo-PG, EC3.2.1.67). Endo-PG can randomly hydrolyze  $\alpha$ -1-4 polygalacturonic acid, take part in pectin degradation, and cause the structure disintegration of cell wall, leading to the fruit ripening and softening. Particularly, the *endo-PG* family genes can be involved in fruit softening, and the expression patterns are distinct among different fleshy varieties with different treatments during fruit softening. However, molecular mechanism towards *endo-PG* family genes in relation to peach fruit ripening remains unclear. To study the differential responsive effects of *endo-PG* family genes in different texture peaches and under different storage conditions during peach softening, we carried out characterization of *endo-PG* family genes from peach genome, and analysed the gene expression levels of *endo-PG* family genes in different peach texture cultivars under

收稿日期: 2017-11-22 接受日期: 2018-02-01

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金[CX(15)1020]; 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-30)

作者简介: 姜航, 男, 在读硕士研究生, 研究方向为桃分子生物学。Tel: 025-84391891, E-mail: 1428704055@qq.com

\*通信作者 Author for correspondence. Tel: 025-84391891, E-mail: mly1008@aliyun.com

1-MCP and low temperature treatments.【Methods】Different peach cultivars of ‘Xiahui 5’ with soft-melting flesh, ‘Zijinhong 3’ with hard-melting flesh, ‘Xiacui’ with stonyhard flesh, and ‘Babygold 7’ with non-melting flesh in 80% maturity were collected as test materials. The changes of flesh firmness under different temperatures storage (room temperature 25 °C and cold 4 °C) and 1-MCP treatments were analysed. Total RNA of the flesh was extracted and cDNA was synthesized as a template by reverse transcription. Through the bioinformatics analysis, the peach *endo-PG* gene family was excavated and predicted, the genes of the *endo-PG* family were screened and identified from the peach genome, and quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was carried out to determine the expression profiles of each gene in different tissues and different fleshy peaches under different storage time treatments. Correlation analysis between fruit flesh firmness and *endo-PG* family gene expression were determined using SPSS 19.0 software (SPSS, Chicago, IL, USA).【Results】1-MCP treatment significantly inhibited fruit softening of ‘Xiahui 5’ with soft-melting flesh and ‘Babygold 7’ with non-melting flesh in the initial storage, while it did not significantly effected fruit softening of ‘Xiacui’ with stonyhard flesh and ‘Zijinhong 3’ with hard-melting flesh. Under low temperature treatment, the flesh firmness of ‘Zijinhong 3’ ‘Xiacui’ and ‘Babygold 7’ maintained at a high level in the long cold storage, whereas flesh firmness of ‘Xiahui 5’ quickly softened during the second day of the cold storage. In addition, 13 *endo-PG* genes were identified in peach genomes and distributed on 5 different chromosomes. All peach *endo-PG* genes possess at least 2 introns, *Prupe.7G040000* and *Prupe.3G081700* have the most amount of introns (8). QRT-PCR analysis showed that the expression levels of *endo-PG* family genes were differentially observed in different peach organs, and the expression levels of each gene was significantly distinct among peaches with different flesh. Dramatically, the expression level of *Prupe.4G261900* gene in ‘Xiahui 5’ flesh was the highest and maintained in higher expression levels under different treatments, while expression level of the other genes were relatively lower or not detected. Compared with the control (25 °C), both 1-MCP and low temperature treatments significantly reduced the expression level of *Prupe.4G261900* of ‘Xiahui 5’ with soft-melting flesh during the first 2 and 4 days of the cold storage period. 1-MCP treatment significantly decreased the expression levels of 4 genes of ‘Babygold 7’ with non-melting flesh, but had no such effect on ‘Xiacui’ with stonyhard flesh. Results show that 1-MCP treatment induced the expression levels of *Prupe.7G005500* and *Prupe.3G081700* genes of ‘Xiahui 5’. Moreover, low temperature treatment significantly reduced expression of 4 genes of ‘Xiacui’ and ‘Babygold 7’ or made them to be kept in a relatively steady level, but induced the expression levels of *Prupe.7G269200*, *Prupe.7G005500* and *Prupe.3G081700* genes of ‘Xiahui 5’ with soft-melting flesh. Notably, this study showed that expressions of these genes were not detected in ‘Zijinhong 3’ with hard-melting flesh. Correlation analysis showed that fruit flesh firmness was negatively correlated with *Prupe.4G261900* under the control treatment and with *Prupe.7G005500* of both soft-melting or non-melting peach cultivars under low temperature treatment, respectively.【Conclusion】13 of *endo-PG* family genes were determined in peach genome. Genes of *Prupe.4G261900* and *Prupe.7G005500* were negatively correlated with fruit flesh firmness during postharvest storage. 1-MCP treatment may regulate *Prupe.4G261900* expression, while low temperature treatment regulate *Prupe.7G005500* expression, and further delay the decrease of flesh firmness during earlier shelf-stage after harvest in both soft-melting and non-melting peach cultivars. Favorably, this study provides theoretical basis for postharvest fruit softening during storage.

**Key words:** Peach; Soften; *endo-PG*; 1-MCP; Gene expression

根据果肉质地,可将桃分为绵、软溶质、硬溶质和不溶质4种类型<sup>[1]</sup>。与软溶质桃不同,硬溶质型桃软化速率相对较慢,果肉在贮运过程中损伤小,货架期较长,而不溶质型桃成熟时果实质地较硬,软化过程很长,且无溶质过程<sup>[2-3]</sup>。Lester等<sup>[4]</sup>研究发现,桃溶质/不溶质(*M/m*)性状受1对等位基因控制,溶质型对不溶质型为显性,其中不溶质型桃软化缓慢与内切酶多聚半乳糖醛酸酶(*endo-PG*)活性较低有关<sup>[5-6]</sup>,*endo-PG*可以催化果肉细胞壁果胶(多聚半乳糖醛酸链)的水解<sup>[6]</sup>。在溶质型桃成熟阶段,*endo-PG*基因的表达量和酶的活性均出现大幅升高<sup>[7-8]</sup>,与之相反,不溶质型桃成熟阶段,*endo-PG*基因的表达量和酶的活性均处在较低水平<sup>[9-10]</sup>。除溶质型和不溶质型肉质,Yoshida<sup>[11]</sup>报道了桃中还存在着一种硬质型(SH型)肉质,命名为“stonyhard”肉质类型,其果肉质特别硬且韧性好。“stonyhard”型桃在成熟过程中不发生溶质现象,其果肉类类似于不溶质桃,在成熟过程中几乎不释放乙烯,其原因是硬质型桃乙烯合成途径中关键基因 *PpACSI* 的转录水平受到抑制<sup>[12-16]</sup>。最新研究表明,生长素合成限速酶基因(*PpYUC11*,类黄素单加氧酶基因)的表达与 IAA 含量、*PpACSI* 表达以及果实乙烯释放量密切相关,可能控制桃果实的SH肉质性状<sup>[17]</sup>。

桃属于典型的呼吸跃变型果实,成熟过程中伴随着呼吸速率和乙烯释放量的增加。据报道,乙烯能够刺激细胞代谢产生变化,对溶质型桃果实硬度的下降有明显促进作用<sup>[18]</sup>。1-MCP作为乙烯受体抑制剂,能不可逆地作用于乙烯受体,从而阻断其与乙烯的正常结合,抑制乙烯诱导的与果实后熟相关的一系列生理生化反应<sup>[19]</sup>。虽然目前与桃采后保鲜相关的研究较多,但比较不同肉质桃货架期 *endo-PG* 基因变化的报道较少。笔者以4种不同肉质桃品种的果实为试材,研究常温、1-MCP和低温处理下果实软化特性与 *endo-PG* 基因家族表达特性间的关系,寻找特定的 *endo-PG* 家族基因对不同贮藏方式的响应,以期进一步探究果实软化机制,为桃采后贮藏保鲜提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与处理

供试材料为4种不同肉质类型的桃品种(表1),果实均采自江苏省农业科学院国家果树种质南京桃

资源圃。于2016年采摘树冠中上部外围光照条件较好的八成熟果实,采后立即运回实验室,选取大小一致、成熟度一致、无病虫害的果实备用。

表1 试验桃品种肉质类型和成熟期

Table 1 Test type and maturity of fleshy peach cultivars

品种 Cultivar	肉质类型 Flesh texture	成熟期 Mature period
霞晖5号 Xiahui 5	软溶质 Soft-melting	7月5日 Jul. 5
紫金红3号 Zijinhong 3	硬溶质 Hard-melting	6月15日 Jun. 15
霞脆 Xiacui	硬质 Stonyhard	7月10日 Jul. 10
金童7号 Babygold 7	不溶质 Non-melting	8月15日 Aug. 15

将每个品种均匀分为3组。第1组放于室温(25±1)℃、相对湿度为70%~80%的货架上(对照组)。第2组1-MCP+常温为处理1:经1-MCP处理10h后放于室温(25±1)℃、相对湿度70%~80%的货架上。1-MCP处理的过程为:将果实均匀地放置在事先已清洁干净的1m×1m×1.2m塑料箱中,塑料箱中存放100mm培养皿和50mL的烧杯各1只,培养皿中放入1-MCP粉末和水,充分混合,将1-MCP体积分数配成1μL·L<sup>-1</sup>,烧杯中配制20g·L<sup>-1</sup>KOH溶液,迅速密封,置于室温下贮藏10h后取出。第3组低温冷藏为处理2:放置于低温(4±1)℃、相对湿度70%~80%的冷库货架上。每组100个果实,每次试验随机取10个果实进行硬度测定,桃果肉去皮切碎后在液氮中速冻,置于-80℃冰箱以备后续试验。每组设置3次重复。

### 1.2 方法

1.2.1 果肉硬度测定 在果实缝合线对称两侧中部用TA.XT.Plus(Stable Micro System, London, the United Kingdom)型质构仪测定去皮硬度(果肉硬度),探头直径8mm,测试深度5mm,贯入速度1mm·s<sup>-1</sup>。取2个点的平均值作为每个果实的去皮硬度,每次取10个果实测定。

1.2.2 *endo-PG* 家族基因的筛选与鉴定 通过生物信息学分析,对桃 *endo-PG* 基因家族进行挖掘和预测。以拟南芥TAIR数据库(<http://www.arabidopsis.org/browse/genefamily/index.jsp>)的13个 *endo-PG* 家族基因的氨基酸序列为参考序列,在Phytozome peach genome database Version 2.0(<http://www.phytozome.net>)中检索桃基因组中可能的 *endo-PG* 家族基因。候选基因ID号、基因组定位位置、染色体分布、开放阅读框和编码氨基酸等信息均在Phytozome数据库中检索获得。

1.2.3 *endo-PG* 家族相关基因的表达分析 采用荧光定量(qRT-PCR)技术研究 *endo-PG* 家族基因在不同肉质桃贮藏期的表达特性,采用 Plant MiniBEST 试剂盒(TaKara,大连,中国)提取样品总 RNA,并通过 PrimeScript™ RT reagent Kit 反转录试剂盒(TaKara,大连,中国)合成第 1 链 cDNA,作为 qRT-PCR 模板,利用 NCBI/Primer-BLAST 在线服务器设计 *endo-PG* 家族基因的特异性表达引物,以桃 *Actin* 为内参基因<sup>[20]</sup>,引物(表 2)由上海 Invitrogen 生物公司合成。采用实时定量 PCR 仪(ABI 7500,美国)进行基因相对表达量分析。荧光染料使用 SYBRGreen (BioTeke,北京,中国)。反应程序为:95 °C,5 min; 95 °C,5 s;60 °C,40 s,40 个循环;72 °C,10 s。

表 2 qRT-PCR 引物

Table 2 Sequences of the primers used for qRT-PCR

基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火 温度 Tm/°C	片段长度 Fragment length/bp
<i>Prupe.</i> - <i>4G261900</i>	F:CGACTTTGGGTTTTTCCGACT	54	150
	R:CGGTGTTAGGGCTGTTC	58	
<i>Prupe.</i> - <i>4G261800</i>	F:CTAGTCTTGATGATGGGCGGT	56	235
	R:CGTCAATGCGGAAGGTGAT	58	
<i>Prupe.</i> - <i>7G269200</i>	F:GATGCATGGTCTGCAGCTTG	54	145
	R:TCAACGTTCCGTCGATCTG	58	
<i>Prupe.</i> - <i>6G202500</i>	F:CCACCTGCTTGCTTTTCGAG	53	122
	R:TATTGGGTTGCCCTTCCTC	58	
<i>Prupe.</i> - <i>7G005500</i>	F:CTCCACAAGCCTCATTGTCT	53	189
	R:GGCACGTAAATGACAGCC	58	
<i>Prupe.</i> - <i>7G036300</i>	F:CTCATGTGTACTTGTGTTTGCC	54	234
	R:TGTTGCATGGCCCTCTGAA	58	
<i>Prupe.</i> - <i>7G031900</i>	F:GGTGTTCAATTCTTGATGTCG	54	162
	R:GATGGCCGTAGCCGATGT	58	
<i>Prupe.</i> - <i>7G269400</i>	F:GGCTGAGGTTACAAGAAGTTG	53	130
	R:TACACCGTTAGGCTTGGCT	58	
<i>Prupe.</i> - <i>7G269300</i>	F:CGGCAGAGGCAGTAACATT	58	146
	R:GGCACCAGTAGTCCATTG	56	
<i>Prupe.</i> - <i>7G036100</i>	F:ACGGGTACGCATCAAAAC	58	151
	R:GAGCTCTGACGAGGACAAC	60	
<i>Prupe.</i> - <i>8G181300</i>	F:GCAGCATGTACCAGAAGGG	60	131
	R:CAAGGATCCGGTAATCAGACG	53	
<i>Prupe.</i> - <i>7G040000</i>	F:CCTGCACTTCTAAGGCACC	60	166
	R:TCCCCAGATGACAGGTCCAA	53	
<i>Prupe.</i> - <i>3G081700</i>	F:AGAATAGTCGCGCCAGATGA	60	206
	R:CACATAGCTCCCCATGCCTT	53	
<i>ACTIN</i>	F:GTTATCTTTCATCGCGTCTTCG	56	112
	R:CTTACCATTCCAGTCCATTGTC	57	

*endo-PG* 家族基因组织 qRT-PCR 分析表明, *Prupe.4G261900* 在果肉中表达量最高, *Prupe.7G005500* 和 *Prupe.3G081700* 分别在叶和茎中的表达量较高,但远低于 *Prupe.4G261900* 在果肉

中的表达量,而其他基因成员在不同组织中的表达量极低。因此,笔者只选用 *Prupe.4G261900*、*Prupe.7G269200*、*Prupe.7G005500*、*Prupe.3G081700* 这 4 个基因在货架期桃果肉中的表达量数据。

### 1.3 数据处理

基因相对表达量计算公式为  $2^{-\Delta CT[21]}$ , 试验数据采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 17.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 1-MCP 和低温对果实贮藏期硬度变化的影响

常温贮藏下,软溶质‘霞晖 5 号’硬度下降最快,硬溶质‘紫金红 3 号’次之。贮藏后 2 d,‘霞晖 5 号’果实硬度下降了 85.86%,较同期‘紫金红 3 号’的硬度下降速率高 25.30%。硬质‘霞脆’和不溶质‘金童 7 号’在贮藏过程中硬度下降速率较低,贮藏后 12 d,‘金童 7 号’硬度由开始的  $8.06 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$  下降为  $3.25 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,下降速率为 59.68%,比贮藏同期的‘霞脆’硬度下降速率高 16.57%,贮藏 9 d 至 12 d 时,‘金童 7 号’硬度的下降幅度为 8.30%,而‘霞脆’仅为 2.36%。

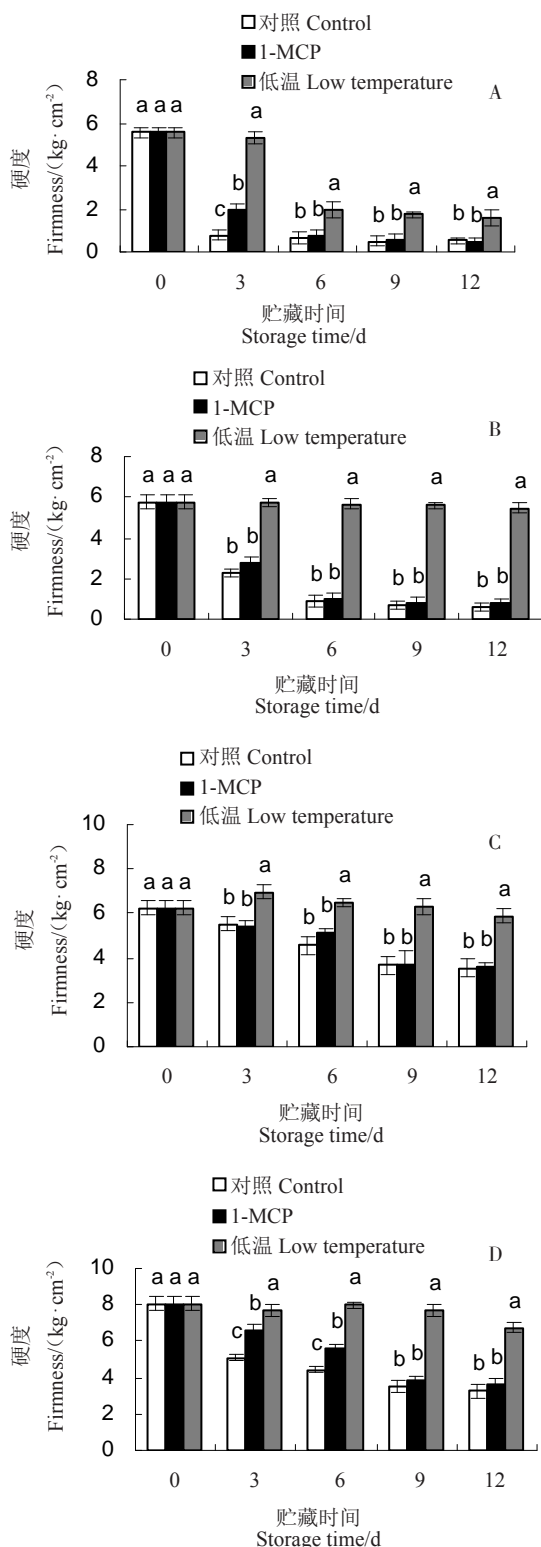
与 1-MCP+常温处理、对照组相比,低温处理延缓了软溶质‘霞晖 5 号’在贮藏后 2~4 d 硬度的下降,其贮藏后期硬度保持在较低水平(图 1-A)。1-MCP 处理显著抑制了‘霞晖 5 号’贮藏前 2 d 和‘金童 7 号’贮藏前 6 d 硬度的下降速率,贮藏后期,2 个品种处理间差异不显著。1-MCP 处理对‘霞脆’常温贮藏期间果实硬度变化的影响不显著。‘紫金红 3 号’‘霞脆’和‘金童 7 号’的硬度在低温贮藏过程中几乎没有变化(图 1-B~D)。

### 2.2 *endo-PG* 基因的筛选与鉴定

通过生物信息学分析,从桃基因组中筛选并鉴定出 13 个 *endo-PG* 家族基因(表 3)。13 个 *endo-PG* 家族基因分布在 5 个染色体上,其中 7 号染色体上分布最多,内含子数量为 2~8 个,开放阅读框长度为 900~1 400 bp(表 3)。

### 2.3 1-MCP 和低温对果实贮藏中相关软化基因表达的影响

2.3.1 *Prupe.4G261900* 同一品种不同处理, *Prupe.4G261900* 基因的表达量在贮藏期间的变化趋势大致相同,但也稍有差异。整个贮藏期间,‘霞晖 5 号’和‘霞脆’果实的 *Prupe.4G261900* 转录表达均



A. 软溶质霞晖5号; B. 硬溶质紫金红3号; C. 硬质型霞脆; D. 不溶质金童7号。不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。下同。

A. Soft-melting Xiahui 5; B. Hard-melting Zijinhong 3; C. Stony-hard Xiacui; D. Non-melting Babygold 7. Different small letters indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

图1 不同品种桃在1-MCP和低温处理下果肉硬度的变化  
Fig. 1 Changes of flesh firmness among different peach cultivars under 1-MCP and low temperature treatments

表3 桃endo-PG家族基因的信息

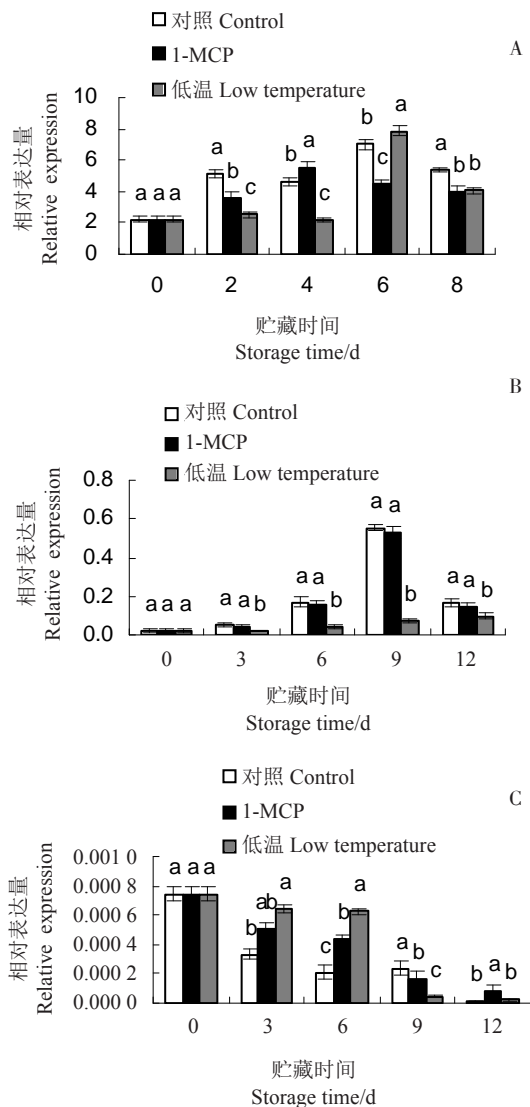
Table 3 Information of *endo*-PG family members in peach

基因模式标号 Gene ID	基因位置 Gene location	染色体 分布 Chrom- osome distrib- ution	开放 阅读 框长度 ORF length/ bp	编码氨基 酸数目 Amino acid No.
<i>Prupe.4G261900</i>	19 046 344~19 049 605	4	1 182	393
<i>Prupe.4G261800</i>	19 028 015~19 029 785	4	1 179	392
<i>Prupe.7G269200</i>	22 123 592~22 125 954	7	1 185	394
<i>Prupe.6G202500</i>	21 014 620~21 019 112	6	1 215	404
<i>Prupe.7G005500</i>	631 263~632 986	7	1 188	395
<i>Prupe.7G036300</i>	6 651 713~6 653 256	7	1 131	376
<i>Prupe.7G031900</i>	5 895 457~5 896 991	7	1 197	398
<i>Prupe.7G269400</i>	22 133 289~22 134 974	7	1 212	403
<i>Prupe.7G269300</i>	22 130 088~22 131 642	7	1 188	395
<i>Prupe.7G036100</i>	6 624 197~6 626 309	7	924	307
<i>Prupe.8G181300</i>	18 154 229~18 155 951	8	1 164	387
<i>Prupe.7G040000</i>	7 378 287~7 380 612	7	1 311	436
<i>Prupe.3G081700</i>	6 063 881~6 067 444	3	1 389	462

呈先上升后下降的趋势;‘霞晖5号’果实 *Prupe.4G261900* 表达量显著高于‘霞脆’,且‘霞晖5号’ *Prupe.4G261900* 表达峰值是‘霞脆’峰值的12.8倍;‘金童7号’ *Prupe.4G261900* 表达量在不同处理中均呈下降趋势,且表达丰度极低,峰值仅为‘霞晖5号’峰值的万分之一(图2)。

相同贮藏时间同一品种在不同处理下, *Prupe.4G261900* 表达量存在差异。贮藏前期(0~2 d)和后期(6~8 d),1-MCP+常温处理的‘霞晖5号’果实 *Prupe.4G261900* 转录水平均显著低于对照组 ( $p < 0.05$ )。贮藏0~4 d时,低温冷藏的‘霞晖5号’果实 *Prupe.4G261900* 转录水平显著低于1-MCP+常温处理和对照组,且表达量保持稳定,至贮藏6 d时呈上升趋势,随后呈下降趋势(图2-A);低温冷藏‘霞脆’果实的 *Prupe.4G261900* 表达量显著低于对照组,而经1-MCP处理的 *Prupe.4G261900* 表达量略低于对照组,但差异不显著(图2-B);贮藏0~6 d时,低温冷藏和1-MCP+常温处理的‘金童7号’果实 *Prupe.4G261900* 表达量均显著高于对照组。贮藏后12 d,低温和对照组果实 *Prupe.4G261900* 基因表达量接近于0,显著低于1-MCP+常温处理(图2-C)。

2.3.2 *Prupe.7G269200* *Prupe.7G269200* 在3种果肉中的表达量极低,但其对不同处理的响应情况存在显著差异。对照组‘霞晖5号’果实



A. 软溶质霞晖 5 号; B. 硬质型霞脆; C. 不溶质金童 7 号。下同。

A. Soft-melting Xiahui 5; B. Stonyhard Xiacui; C. Non-melting Babygold 7. The same below.

图 2 不同品种桃 *Prupe.4G261900* 基因的表达分析

Fig. 2 Expression analysis of *Prupe.4G261900* in different peach cultivars

*Prupe.7G269200* 表达量呈先降后升趋势, 1-MCP+常温处理和低温冷藏的‘霞晖 5 号’果实 *Prupe.7G269200* 表达量呈现先升后降趋势(图 3-A); 3 种处理下‘霞脆’*Prupe.7G269200* 表达量均呈现先升后降的趋势(图 3-B); 3 种处理下‘金童 7 号’*Prupe.7G269200* 表达量均呈现先降后升的趋势(图 3-C)。

贮藏 4~6 d 时, 1-MCP+常温处理和低温冷藏的‘霞晖 5 号’*Prupe.7G269200* 基因表达量显著高于对照组, 且低温效果更为显著(图 3-A)。与对照组相

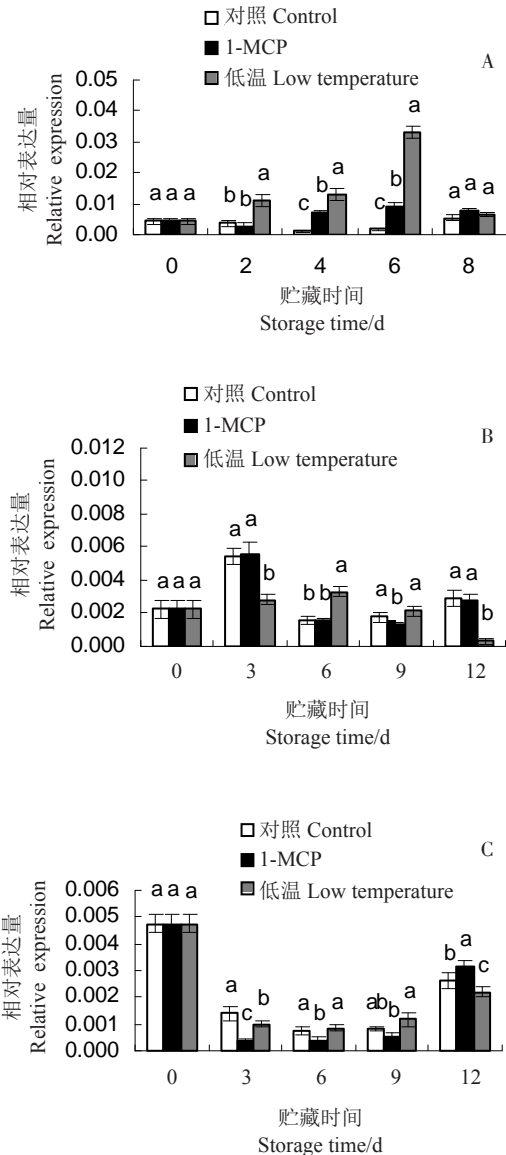


图 3 不同品种桃 *Prupe.7G269200* 基因的表达分析

Fig. 3 Expression analysis of *Prupe.7G269200* in different peach cultivars

比, 1-MCP 处理对‘霞脆’*Prupe.7G269200* 表达量无显著影响, 低温有利于维持其基因表达丰度(贮藏 0~6 d), 后期迅速下降(图 3-B)。1-MCP 显著抑制 *Prupe.7G269200* 在‘金童 7 号’贮藏中期(3~9 d)的表达量, 低温处理总体效果不显著(图 3-C)。

**2.3.3 *Prupe.7G005500*** *Prupe.7G005500* 在不同肉质桃中表达量极低。3 种处理下‘霞晖 5 号’*Prupe.7G005500* 表达量均呈现先升后降的趋势; ‘霞脆’和‘金童 7 号’在对照组及 1-MCP+常温处理下, *Prupe.7G005500* 表达量逐渐上升; 低温在很大程度上抑制了‘霞脆’果实基因表达量, 但大幅度提高了其在‘金童 7 号’贮藏末期的表达量。

1-MCP+常温处理显著抑制 *Prupe.7G005500* 在‘金童7号’果实中的表达,而对‘霞脆’无显著影响,提高了其在‘霞晖5号’贮藏4~6 d的表达量;低温显著诱导 *Prupe.7G005500* 在‘霞晖5号’果实中的表达,显著促进‘金童7号’末期基因的表达,但也显著抑制了其在‘霞脆’中的表达(图4)。

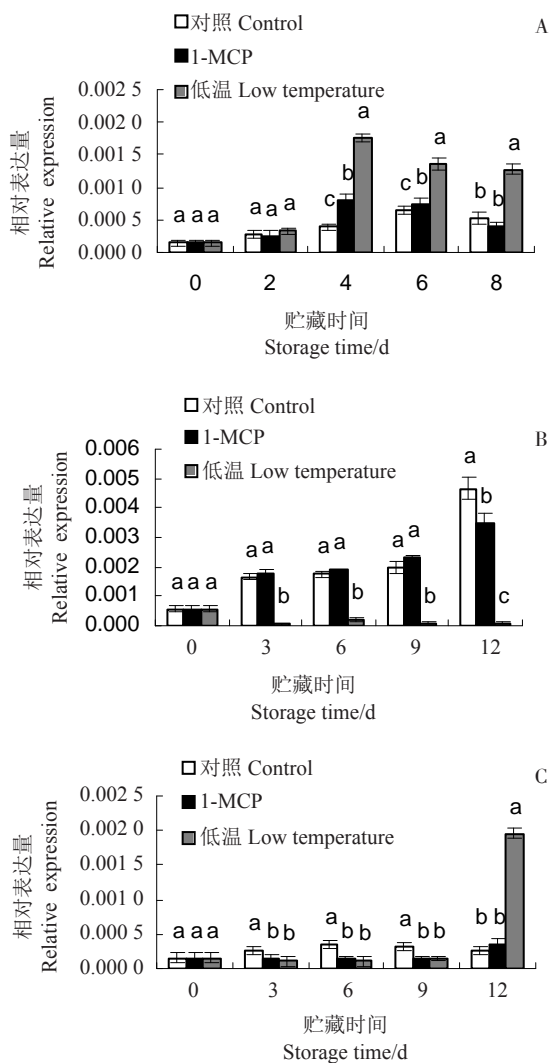


图4 不同品种桃 *Prupe.7G005500* 基因的表达分析  
Fig. 4 Expression analysis of *Prupe.7G005500* in different peach cultivars

2.3.4 *Prupe.3G081700* *Prupe.3G081700* 在对照组和1-MCP+常温处理的‘霞脆’果实中表达量相对较高,且持续时间较长,在对照组贮藏3~12 d时,均保持较稳定的表达丰度,而在‘霞晖5号’和‘金童7号’果实中基因表达量极低,其贮藏过程中表达丰度峰值分别在贮藏后2 d和6 d,之后迅速下降。1-MCP+常温处理的‘霞晖5号’和‘金童7号’果实 *Prupe.3G081700* 表达丰度呈现先增后减

的趋势。低温冷藏‘霞晖5号’ *Prupe.3G081700* 的表达趋势与1-MCP+常温处理基本一致,对‘霞脆’和‘金童7号’果实基因表达基本无影响。由图5可知,1-MCP+常温处理可以促进‘霞晖5号’ *Prupe.3G081700* 的表达,显著抑制贮藏后6 d‘金童7号’ *Prupe.3G081700* 的表达,而对‘霞脆’基本无影响。低温诱导 *Prupe.3G081700* 在‘霞晖5号’中的表达,但显著抑制其在‘霞脆’和‘金童7号’中的表达。

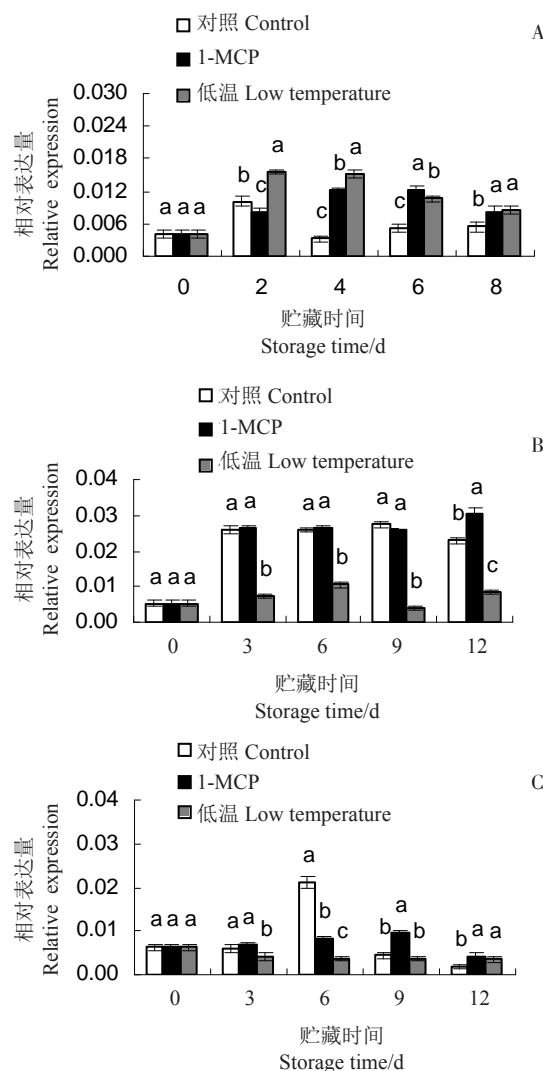


图5 不同品种桃 *Prupe.3G081700* 基因的表达分析  
Fig. 5 Expression analysis of *Prupe.3G081700* in different peach cultivars

此外,‘紫金红3号’果实中均未能检测到上述4个基因的表达(数据未展示)。

## 2.4 果肉硬度与 *endo-PG* 基因表达量的相关性分析

由表4可知,在贮藏过程中,不同肉质桃在不同

表 4 果肉硬度与 *endo-PG* 基因表达量的相关性分析  
Table 4 Correlation analysis between flesh firmness and *endo-PG* genes expression

基因名称 Gene name	果肉硬度 Flesh firmness/(kg·cm <sup>-2</sup> )								
	霞晖 5 号 Xiahui 5			霞脆 Xiacui			金童 7 号 Babygold 7		
	对照 Control	1-MCP	低温 Low temperature	对照 Control	1-MCP	低温 Low temperature	对照 Control	1-MCP	低温 Low temperature
<i>Prupe.4G261900</i>	-0.890*	-0.857*	-0.555	-0.733	-0.695	-0.703	0.964**	0.996**	0.745
<i>Prupe.7G269200</i>	0.340	-0.615	-0.471	0.350	0.298	0.776	0.754	0.360	0.149
<i>Prupe.7G005500</i>	-0.750	-0.733	-0.944*	-0.770	-0.811	-0.249	-0.751	-0.520	-0.946*
<i>Prupe.3G081700</i>	-0.286	-0.844	-0.193	-0.689	-0.751	0.105	0.060	-0.093	0.520

注:\*,\*\*分别表示在 0.05、0.01 水平相关。

Note: \* and \*\* were expressed correlation at 0.05 and 0.01 levels respectively.

处理下,果肉硬度与 *endo-PG* 家族各成员的相关性不同。对照和 1-MCP+常温处理的‘金童 7 号’和‘霞晖 5 号’果肉硬度与 *Prupe.4G261900* 表达量分别呈正负相关,与低温处理下 *Prupe.7G005500* 表达量呈负相关。然而‘霞脆’果肉硬度在 3 种处理下与 *endo-PG* 家族基因的表达量没有显著的相关性。

### 3 讨 论

硬度是评价果实贮藏品质的一个重要指标。果实软化是一个涉及细胞壁降解的极其复杂的进程,由诸多细胞壁修饰酶共同调控<sup>[22-23]</sup>,其中 *endo-PG* 活性的提高是桃果实软化、果肉溶解必需的条件<sup>[24]</sup>。通过生物信息学分析,从桃基因组中鉴定出 13 个 *endo-PG* 家族基因,其中 9 个家族基因在不同处理下表达量极低,且在贮藏中无规律性变化。笔者选择了 4 个家族基因进行分析,结果显示, *Prupe.4G261900* 在软溶质‘霞晖 5 号’果肉中表达量最高。表明 *Prupe.4G261900* 可能是桃果肉软化中关键的 *endo-PG* 基因成员,并在软溶质桃果肉的软化过程中起重要作用。

1-MCP 可以阻断乙烯与果蔬受体的结合,在果实发生呼吸跃变时阻止乙烯引起的成熟作用,笔者发现这种作用在不同肉质果实中存在差异。研究表明,1-MCP 处理可显著降低杏<sup>[11]</sup>、香蕉<sup>[25]</sup>、李<sup>[26]</sup>和苹果<sup>[27]</sup>等呼吸跃变型果实硬度的下降速率,与 1-MCP 维持果实固有内源果胶含量、抑制果实硬度下降有关。本研究结果表明,软溶质‘霞晖 5 号’在对照组和 1-MCP+常温处理下的硬度变化与 *Prupe.4G261900* 表达量呈负相关。1-MCP+常温处理减缓了‘霞晖 5 号’果实贮藏前期(0~4 d) *Prupe.4G261900* 表达量的下降速率,在贮藏后期

(6~8 d), 1-MCP+常温处理的 *Prupe.4G261900* 基因表达量显著低于对照组,1-MCP+常温处理在此贮藏阶段对果肉的软化无作用。说明 1-MCP+常温处理可能通过降低贮藏过程中软溶质和不溶质果实 *Prupe.4G261900* 的表达量来减小硬度下降速率,这与 Wei 等<sup>[28]</sup>在苹果上的研究结果相似。虽然 *Prupe.4G261900* 与果肉硬度的相关性在不溶质‘金童 7 号’中比在软溶质‘霞晖 5 号’中更显著,但‘金童 7 号’在贮藏过程中硬度下降比‘霞晖 5 号’缓慢,这与 *endo-PG* 基因表达量较低有关<sup>[5]</sup>。

‘霞脆’作为一种硬质型的肉质桃,在果实贮藏过程中基本无乙烯释放<sup>[29]</sup>,这说明贮藏过程中‘霞脆’的硬度变化与 *endo-PG* 家族基因表达量无明显相关性,1-MCP+常温处理不能通过响应 *endo-PG* 家族基因的表达来影响硬质型‘霞脆’硬度变化。此外,笔者发现硬溶质‘紫金红 3 号’果实中难以检测到 13 个 *endo-PG* 家族基因的表达量,1-MCP 对‘紫金红 3 号’果实硬度及 *endo-PG* 家族基因丰度的变化无显著影响,这可能是硬溶质果肉在采后更耐贮藏的原因。

低温对 4 个不同肉质桃贮藏期间 *endo-PG* 基因成员表达的影响有所差异。从生理代谢角度来看,低温处理对 4 种不同货架期肉质桃的硬度下降都具有不同程度的缓解作用。从分子基因角度来看,低温下 *Prupe.7G005500* 表达量与软溶质‘霞晖 5 号’和不溶质‘金童 7 号’贮藏期的硬度呈显著负相关。这些结果表明, *Prupe.7G005500* 参与了果实的软化,具体表现为低温下 *Prupe.7G005500* 贮藏前期表达量较低,后期 *Prupe.7G005500* 软化基因被诱导,基因表达量大幅度提升,从而导致果肉硬度下降,其中在软溶质‘霞晖 5 号’中表现更为显著。1-MCP+常温



和低温冷藏处理显著促进了‘霞晖5号’贮藏后期(4~8 d) *Prupe.3G081700* 的表达量,却显著抑制了果实贮藏前期(0~2 d)的软化速率,经相关性分析,二者之间并无相关性。此外,1-MCP+常温处理显著促进了‘金童7号’ *Prupe.4G261900* 的表达量,却显著抑制了果实的软化速率,其表达量与相应果实硬度呈极显著正相关,具体机制有待进一步探讨。

### 参考文献 References:

- [1] 王力荣,朱更瑞. 桃种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社,2005: 47.  
WANG Lirong, ZHU Gengrui. Descriptors and data standard for peach[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005: 47.
- [2] BAILEY J S, FRENCH A P. The inheritance of certain characters in the peach[J]. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 1932, 29: 127-130.
- [3] BASSI D, MONET R. Botany and taxonomy. The peach: botany, production and uses[M]. Wallingford: CAB International, 2008: 1-36.
- [4] LESTER D R, SHERMAN W B, ATWELL B J. Endopolygalacturonase and the melting flesh (M) locus in peach[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1996, 121 (2): 231-235.
- [5] MORGUTTI S, NEGRINI N, NOCITO F F, GHIANI A, BASSI D, COCCUCCI M. Changes in endopolygalacturonase levels and characterization of a putative *endo-PG* gene during fruit softening in peach genotypes with nonmelting and melting flesh fruit phenotypes[J]. New Phytologist, 2006, 171(2): 315-328.
- [6] 魏潇,刘威生,刘宁,章秋平,张玉萍,刘硕,刘有春. 果实软化相关 *PG* 基因的进化分析和基因组定位[J]. 园艺学报, 2011, 38(9): 1791-1799.  
WEI Xiao, LIU Weisheng, LIU Ning, ZHANG Qiuping, ZHANG Yuping, LIU Shuo, LIU Youchun. Phylogenetic analysis and genomic localization of *PG* gene related to fruit softening [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2011, 38(9): 1791-1799.
- [7] BRUMMELL D A, DAL C V, CRISOSTO C H, LABAVITCH J M. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(405): 2029-2039.
- [8] YOSHIOKA H, HAYAMA H, TATSUKI M, NAKAMURA Y. Cell wall modifications during softening in melting type peach ‘Akatsuki’ and non-melting type peach ‘Mochizuki’ [J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 60(2): 100-110.
- [9] GHIANI A, ONELLI E, AINA R, COCCUCCI M, CITTERIO S. A comparative study of melting and non-melting flesh peach cultivars reveals that during fruit ripening *endo-polygalacturonase* (*endo-PG*) is mainly involved in pericarp textural changes, not in firmness reduction[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(11): 4043-4054.
- [10] MARTINO G D, VIZOVITIS K, BOTONDI R, BELLINCONTRO A, MENCARELLI F. 1-MCP controls ripening induced by impact injury on apricots by affecting SOD and POX activities [J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 39(1): 38-47.
- [11] YOSHIDA M. Genetical studies on the fruit quality of peach varieties, 3: Texture and keeping quality[C]//Hiratsuka: Bulletin of the Fruit Tree Research Station, 1976.
- [12] GOFFREDA J C. Stonyhard gene of peach alters ethylene biosynthesis, respiration, and other ripening-related characteristics [J]. Hortscience, 1992, 27(6): 610.
- [13] HAJI T, YAEGAKI H, YAMAGUCHI M. Changes in ethylene production and flesh firmness of melting, nonmelting and stony hard peaches (*Prunus persica*) after harvest[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2001, 70 (4): 458-459.
- [14] HAJI T, YAEGAKI H, YAMAGUCHI M. Softening of stony hard peach by ethylene and the induction of endogenous ethylene by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2003, 72 (3): 212-217.
- [15] TATSUKI M, HAJI T, YAMAGUCHI M. The involvement of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase isogene, *Pp-ACSI*, in peach fruit softening[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(6): 1281-1289.
- [16] TATSUKI M, HAJI T, YAMAGUCHI M. The peach 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase isogene, *Pp-ACSI*, is required for fruit softening [M]// Advances in Plant Ethylene Research. Netherlands: Springer, 2007: 227-228.
- [17] 曾文芳,丁义峰,潘磊,王小贝,牛良,鲁振华,崔国朝,王志强. 桃硬性质状可能源于 *PpYUC11* 基因启动子区域 CACTA 型转座子的插入[J]. 果树学报, 2017, 34(10): 1239-1248.  
ZENG Wenfang, DING Yifeng, PAN Lei, WANG Xiaobei, NIU Liang, LU Zhenhua, CUI Guochao, WANG Zhiqiang. A CACTA transposable element in a *PpYUC11* gene promoter is associated with the stony hard phenotype in peach[J]. Journal of Fruit Science, 2017, 34(10): 1239-1248.
- [18] HAYAMA H, SHIMADA T, FUJII H, ITO A, KASHIMURA Y. Ethylene-regulation of fruit softening and softening-related genes in peach[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57 (15): 4071-4077.
- [19] SISLER E C, SEREK M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments[J]. Physiologia Plantarum, 1997, 100(3): 577-582.
- [20] TONG Z G, GAO Z H, WANG F, ZHOU J, ZHANG Z. Selection of reliable reference genes for gene expression studies in peach using real-time PCR[J]. BMC Molecular Biology, 2009, 10(1): 71.
- [21] 郭磊,蔡志翔,张斌斌,许建兰,宋宏峰,马瑞娟. 5-氨基乙酰丙酸促进桃果皮提前着色机制研究[J]. 园艺学报, 2013, 40(6):

- 1043-1050.  
GUO Lei, CAI Zhixiang, ZHANG Binbin, XU Jianlan, SONG Hongfeng, MA Ruijuan. The mechanism analysis of anthocyanin accumulation in peach accelerated by ALA[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2013, 40(6): 1043-1050.
- [22] BROWNLEADER M D, JACKSON P, MOBASHERI A, PANTELIDES A T, SUMAR S, TREVAN M, DEY P M. Molecular aspects of cell wall modifications during fruit ripening[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1999, 39(2): 149-164.
- [23] BRUMMEL D A, HARPSTER M H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants[J]. Plant Molecular Biology, 2001, 47(1/2): 311-340.
- [24] FISHMAN M L, LEVAJ B, GILLESPIE D. Changes in the physio-chemical properties of peach fruit pectin during on-tree ripening and storage[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1993, 18(3): 343-349.
- [25] GUPTA S M, SRIVASTAVA S, SANE A P, NATH P. Differential expression of genes during banana fruit development, ripening and 1-MCP treatment: Presence of distinct fruit specific, ethylene induced and ethylene repressed expression[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 42(1): 16-22.
- [26] KHAN A S, SINGH Z. 1-MCP application suppresses ethylene biosynthesis and retards fruit softening during cold storage of 'Tegan Blue' Japanese plum[J]. Plant Science, 2009, 176(4): 539-544.
- [27] MARIN A B, COLONNA A E, KUDO K, KUPFERMAN E M, MATTHEIS J R. Measuring consumer response to 'Gala' apples treated with 1-methylcyclopropene (1-MCP) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2009, 51(1): 73-79.
- [28] WEI J M, MA F W, SHI S G, QI X D, ZHU X Q, YUAN J W. Changes and postharvest regulation of activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 56(2): 147-154.
- [29] 杨勇, 马瑞娟, 沈志军, 张斌斌, 郭绍雷, 俞明亮. 不同果肉质地桃果实乙烯生成规律及其对乙烯的反应[J]. 浙江农业学报, 2015, 27(10): 1730-1734.  
YANG Yong, MA Ruijuan, SHEN Zhijun, ZHANG Binbin, GUO Shaolei, YU Mingliang. Ethylene production and its response to ethylene in peach fruits with different fruit quality[J]. Zhejiang Journal of Agricultural Sciences, 2015, 27(10): 1730-1734.

## · 书 讯 ·

### 推介几本草莓研究论(译)著

《草莓研究进展》(第五集)(张运涛, 雷家军, 王桂霞主编, 中国农业出版社, 2017年1月出版, 单价200元)。这本文集共计106万余字, 内容包括特邀报告(英汉对照)、资源与育种、生物技术、栽培生理、生产技术、宏观评述及国外最新研究动态等, 内容丰富新颖, 对高校、科研单位和技术部门的专业技术人员有重要参考价值。

#### 第七届世界草莓大会论文集-11

《草莓的基本原理——生态与栽培技术》(张运涛, 李新贤, 雷家军等译校, 中国农业出版社, 2016年12月出版, 单价100元)是由日本著名草莓专家森下昌三博士编著, 本书共9章, 23万余字, 除介绍草莓的基本知识之外, 还详细论述了日本草莓的育种历史和最新成就, 介绍了日本促成栽培的关键技术及夏秋栽培品种的特性和栽培要点。森下昌三博士从事草莓研究30余年, 在草莓育种和栽培方面颇有建树, 这是一本很有价值的专著。

#### 第七届世界草莓大会论文集-12

《草莓——历史, 育种与生理》(张运涛, 雷家军, 常琳琳主译, 中国农业出版社, 2017年1月出版, 单价200元)是由已故世界著名草莓专家乔治·达柔教授主编的草莓专著, 本

书共计23章, 47余万字, 详细论述了凤梨草莓诞生的历史、草莓与宗教的关系, 重点介绍了英国、美国、法国和德国等西方国家草莓育种的历史和成就。书中还配有大量彩图, 这是一本草莓世界领域的经典著作。

#### 第七届世界草莓大会系列论文集-13

《现代草莓生产技术》(张运涛, 雷家军, 钟传飞等主译, 中国农业出版社, 2017年1月出版, 单价180元)是由美国佛罗里达大学诺尔曼·奇尔德斯教授组织48位草莓专家和生产者编写而成, 全书53万字, 共分八部分, 第一部分介绍了美国草莓发展历史和草莓的基础知识; 第二部分论述了草莓高垄地膜覆盖栽培的关键技术; 第三部分介绍了草莓病、虫、草防控技术; 第四部分和第五部分分别介绍了露地多年栽培和保护地草莓栽培技术; 第六部分和第七部分分别论述了草莓采收和加工技术, 自采果园的销售策略; 第八部分介绍了墨西哥、南非、西班牙和地中海流域各国草莓的生产概况。

以上书目价格包含邮费, 另每包加3元挂刷费。邮购时请在备注栏标明书名。请注明联系电话以便核实! 邮购地址: 河南省郑州市未来路南端中国农业科学院郑州果树研究所; 收款人: 杂志社, 电话: 0371-65330981。