

## 硬肉桃果实成熟前后钙含量和钙ATP酶活性的变化及其与果实硬度的关系

刘炳辉<sup>1</sup>, 董晓颖<sup>2</sup>, 段艳欣<sup>2</sup>, 贾海波<sup>3</sup>, 邵东玲<sup>3</sup>, 李培环<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>昌乐县红河镇农业服务中心, 山东昌乐 262411; <sup>2</sup>青岛农业大学园林园艺学院, 山东青岛 266109; <sup>3</sup>招远市林业局, 山东招远 265400

**摘要:**以硬肉桃新品种‘双久红’果实为试材, 以常规优良品种‘川中岛白桃’为对照, 分别研究了成熟前20 d和成熟后20 d内两品种果实中钙含量和Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性变化以及它们与果肉硬度关系的结果表明: ‘双久红’果实的总钙和Ca<sup>2+</sup>含量从成熟前15 d开始极显著高于同期‘川中岛白桃’的, 两者与果实硬度变化呈极显著相关( $P < 0.01$ ), 随着果实的成熟两者均呈下降趋势, Ca<sup>2+</sup>-ATP酶的调控能力也逐渐减弱, 但‘双久红’果实中的Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性比‘川中岛白桃’高一些。

**关键词:**硬肉桃; 钙; 果实硬度; 关系

## Changes of Calcium Contents and Ca<sup>2+</sup>-ATPase Activity and Their Relation to Fruit Hardness of Peach Fruit before and after Ripening

LIU Bing-Hui<sup>1</sup>, DONG Xiao-Ying<sup>2</sup>, DUAN Yan-Xin<sup>2</sup>, JIA Hai-Bo<sup>3</sup>, SHAO Dong-Ling<sup>3</sup>, LI Pei-Huan<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Honghe Agriculture Extension Center, Changle, Shandong 262411, China; <sup>2</sup>College of Gardening and Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China; <sup>3</sup>Zhaoyuan Forestry Bureau, Zhaoyuan, Shandong 265400, China

**Abstract:** The fruits of peach (*Prunus persica* L.) ‘Shuangjiuhong’ and ‘Kawanakajima Hakuto’ (control) were used to study the changes of the calcium contents and Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity and their relation to fruit hardness during the period from 20 days before ripening to 20 days after ripening. The results showed that it was extremely marked correlation between total calcium content (including soluble calcium content) and the fruit hardness of two cultivars ( $P < 0.01$ ). The contents of total calcium (including soluble calcium) had a downward trend with the fruit ripening in two cultivars and ‘Shuangjiuhong’ had been significantly higher than ‘Kawanakajima Hakuto’ since 15 d before ripening. The capacity of regulation and control of Ca<sup>2+</sup>-ATPase had gradually weakened, but the Ca<sup>2+</sup>-ATPase of ‘Shuangjiuhong’ showed a higher activity than ‘Kawanakajima Hakuto’.

**Key words:** crisp peach (*Prunus persica* L.); calcium; fruit hardness; relation

生产中许多品种桃都有成熟后变软快、易脱落和货架期短的问题, 严重影响桃树栽培效益的提高。研究桃果实成熟后变软慢的生理生化机制, 选育成熟后果肉硬度大、耐贮运、优质丰产的桃树新品种, 可能有助于解决上述问题。果实成熟前后的硬度变化与果实内钙的含量和代谢过程关系密切。钙能够延迟果实衰老, 抑制膜微粘度的增加(张大鹏等 1998)。有研究认为, 钙还可抑制苹果贮藏过程中线粒体膜结构的破裂(张建军和关军锋 1998)。果实中Ca<sup>2+</sup>含量与呼吸速率呈负相关(Ferrol 和 Bennett 1996)。经CaCl<sub>2</sub>处理的桃果实贮藏期间的好果率显著提高, 桃的货架期也有所延长(肖红梅和王薛修 1996)。钙处理苹果能提高保护酶(SOD)的活性, 抑制丙二醛含量的上升, 保持果实的硬度(关军锋和于凤鸣 1998)。细胞内Ca<sup>2+</sup>信使系统参与乙烯的生理代谢反应。苹果的内源钙

含量高时, 不仅其乙烯释放速率低, 而且乙烯峰值的出现时间也较晚(刘会超等 2002)。有关桃果实成熟后得硬度变化与钙关系的研究, 一般是在果实采后贮藏条件下进行的, 而对桃果实成熟前后一段时期内的硬度变化与钙含量及与其相关酶活性变化之间关系的研究甚少。

桃新品种‘双久红’具有果大、形美、风味佳、成熟后硬度大、变软慢的优良特性(董晓颖等 2006)。本文以其果实为试材, 以白桃常规品种‘川中岛白桃’果实为对照, 比较两品种果实成熟前后共40 d内的钙含量和有关调控酶活性变化及其与果实硬度之间关系的差异, 以揭示硬肉桃品种果

收稿 2009-07-10 修定 2009-08-29

资助 国家青年科学基金(30900976)。

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

实成熟后硬度大和变软慢的钙调节机制,为耐贮运桃新品种的选育提供参考。

## 材料与方 法

试验于2008年7月~2009年5月在青岛农业大学园林园艺学院内进行,试验果实取自山东省临朐县龙岗镇双埠村桃树实验园。两品种桃(*Prunus persica* L.)的砧木均为‘青州蜜桃’。树龄8年,株行距4 m×3 m。试验以‘双久红’为试材,以‘川中岛白桃’为对照,每一品种桃选3株生长势基本一致的树,从成熟(成熟期以各自的果实发育天数计算:‘双久红’为130 d,‘川中岛白桃’为120 d)前20 d开始,每隔5 d取样一次,直到果实成熟后20 d结束。每次取结果部位相同、成熟一致的果实,洗净、切分,以液氮处理后置于-80 °C超低温冰箱中保存备用。

每次取样的同时,在桃园中测定果实硬度,每个品种各选取5个果实,果实的胴部去皮后,用HHP-2001果实硬度计测定3次,果实硬度取15个果实硬度值的平均数。总钙含量测定参照庄伊美(1994)书中的方法,略有修改:去除果皮和果核后将果肉切成片,放在105 °C下杀青0.5 h,然后在80 °C下烘干。称取1.0 g左右果实干样,放入马福炉,在550 °C下灰化4 h,冷却后加入1 mL酸液(HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>=5:1)硝化,再用去离子水定容至25 mL,用原子吸收法测定钙含量,每个测定重复3次,结果用DPS数据处理系统处理。Ca<sup>2+</sup>的测定参照Tieman和Handa(1994)文中的方法进行。Ca<sup>2+</sup>-ATP酶液的提取参照樊秀彩等(2003)文中的方法进行。Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性的测定参照李杨瑞(1987)文中的方法,略有改进:酶液与反应介质体积比为1:5,反应介质含100 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 7.0)、50 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl、0.002 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA-Na<sub>2</sub>、5 mmol·L<sup>-1</sup> DTT、0.01% Triton X-100、1 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>。37 °C下反应10 min后,加20%三氯乙酸终止反应,用钼酸铵比色法测定释放出的无机磷量,酶活性以每分钟每毫克蛋白所释放的无机磷量来表示[μmol (Pi)·mg<sup>-1</sup> (蛋白)·min<sup>-1</sup>]。

## 结果与讨论

### 1 两品种桃果实成熟前后的果肉硬度变化

从图1可见,两品种桃果实硬度在成熟前20 d

下降较快,两者差异并不显著( $P>0.05$ )。但成熟后‘双久红’果实的硬度下降较慢,而‘川中岛白桃’的果实则迅速下降,前者成熟后20 d的硬度仍有4.90 kg·cm<sup>-2</sup>;后者仅有0.9 kg·cm<sup>-2</sup>。成熟后20 d内前者的硬度始终极显著( $P<0.01$ )高于后者。

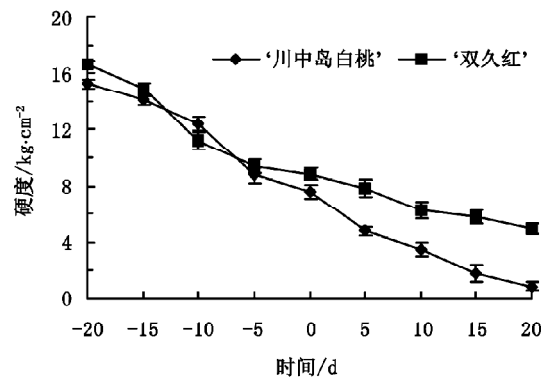


图1 两品种桃果实成熟前后的硬度变化

Fig.1 Changes of fruit hardness in two peach cultivars before and after ripening

横坐标数字前“-”表示果实成熟前,不写“-”表示果实成熟后,下图同此。

### 2 两品种桃果实成熟前后的总钙含量变化

细胞的总钙包括可溶性钙和不溶性钙,前者的松驰结合钙既可向不溶性结合钙转化,也可向游离钙转化,其中不溶性结合钙主要聚集在细胞壁上,是总钙的主要部分,而游离钙,尤其是细胞质中游离钙即使有微量变化也会引起一系列复杂的生理反应。果实中总钙含量的多少及其分布状况直接影响果实的品质和贮藏性能,并且钙还可以维持细胞膜和细胞壁的结构与功能,与果实的硬度有密切关系。有研究表明,苹果用钙处理后与其有关的保护酶活性和保护物质含量均提高,丙二醛含量下降,这对细胞膜结构的维持,果实硬度的保持,果肉软化时间的延缓都是有利的(关军锋1999)。由图2可以看出在成熟后20 d内两品种桃果实的总钙含量均呈下降趋势,这与果实的硬度变化趋势是一致的。‘双久红’果实的总钙含量下降相对比较平缓。‘双久红’果实最后的总钙含量是‘川中岛白桃’果实的1.5倍,且其在整个果实成熟过程中一直显著高于‘川中岛白桃’的。这与‘双久红’果实成熟后变软慢而‘川中岛白桃’变软快的结果(图1)是吻合的。

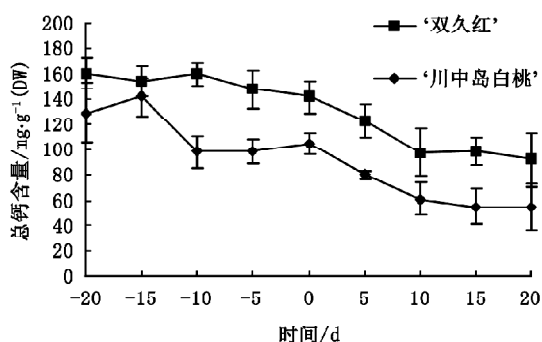


图2 两品种桃果实成熟前后的总钙含量变化

Fig.2 Changes of total calcium content in two peach cultivars before and after ripening

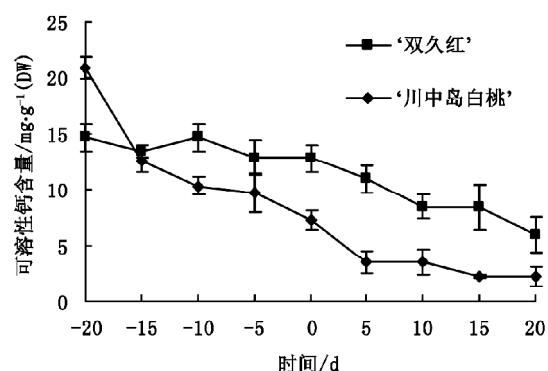


图3 两品种桃果实成熟前后可溶性钙含量的变化

Fig.3 Changes of soluble calcium content in two peach cultivars before and after ripening

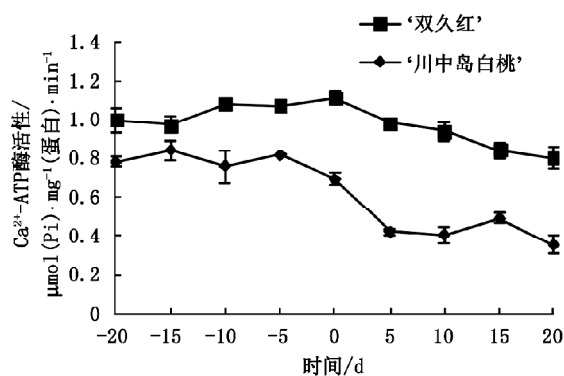
### 3 两品种桃果实成熟前后的可溶性钙含量变化

可溶性钙可抑制乙烯的产生和延缓果实衰老(陈发河等 1991; Brady 等 1985), 并且  $\text{Ca}^{2+}$  还可与 CaM 结合形成  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM 复合物, 进而调节细胞内多种酶的活性(柯玉清和张长峰 2005)。由图 3 可见, 随着果实的成熟, 两品种桃的可溶性钙含量在总体上呈下降趋势, 且变化幅度较大。成熟前第 20 d '川中岛白桃' 果实的可溶性钙含量高于 '双久红' 的, 但前者的可溶性钙含量下降速度较快, 到成熟前 10 d 时, 显著低于后者。到成熟后 20 d, 后者的可溶性钙含量是前者的 2.8 倍。从成熟前 10 d 到成熟后 20 d, 后者的可溶性钙含量始终显著高于前者。相关性分析表明, '川中岛白桃' 果实的总 Ca 和  $\text{Ca}^{2+}$  含量与其果实硬度的相关性均为极显著(两者的  $r$  值分别为 0.97 和 0.97)。 $\text{Ca}^{2+}$  果实的总 Ca 和  $\text{Ca}^{2+}$  含量与其果实硬度相关性均为极显著( $r$  值分别为 0.89 和 0.85)。据此可以认为, 较高的总 Ca 和  $\text{Ca}^{2+}$  含量可能是 '双久红' 果实成熟后硬度大的原因之一。

### 4 两品种桃果实成熟前后的 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性变化

由图 4 可见, 在成熟过程中 '双久红' 果实的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性呈先上升后下降趋势, 成熟时达到高峰, 成熟前其变化幅度不大, 成熟后开始下降。'川中岛白桃' 果实的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性在成熟前第 5 天最高, 为 '双久红' 果实的 75.6%。从成熟前第 5 天开始, '川中岛白桃' 果实的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性在总体上呈下降趋势, 其变化幅度较大。一般认为  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶在细胞内是参与果实衰老调节的, 可以维持细胞  $\text{Ca}^{2+}$  的稳态系统。胞质内的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度过

高会导致细胞的生理代谢紊乱, 定位在细胞质膜和细胞器膜上的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶可将胞质内过高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  及时转运到胞外或细胞器中贮藏起来, 于是  $\text{Ca}^{2+}$  浓度恢复到平衡时的水平, 从而可保持细胞中各种生理和生化功能的正常运转(龚明等 1990)。此外有关研究指出在贮藏期间的苹果可溶性  $\text{Ca}^{2+}$  含量增加,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性下降(宗会和胡文玉 1998)。 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性下降, 细胞调控  $\text{Ca}^{2+}$  的能力也下降, 最终导致细胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  累积, 其累计量达到一定程度时会对细胞产生伤害, 以致果实软化和衰老。本文中果实成熟前后的 40 d 内 '双久红' 果实的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性始终极显著( $P < 0.01$ )高于 '川中岛白桃' 的结果说明两品种桃果实软化时间进程之所以不同可能与两者的  $\text{Ca}^{2+}$  调控能力不同有关。

图4 两品种桃果实成熟前后  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性的变化Fig.4 Changes of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity in two peach cultivars before and after ripening

## 参考文献

- 陈发河, 张维一, 吴光斌(1991). 钙渗入对香蕉果实贮藏期间生理生化的影响. 园艺学报, 18 (9): 365~369
- 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
- 樊秀彩, 关军锋, 刘崇怀, 张继澍(2003). 草莓果实成熟过程中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性变化及酶学特性. 果树学报, 20 (2): 99~102
- 龚明, 李英, 曹宗巽(1990). 植物体内的钙信使系统. 植物学通报, 7 (3): 19~29
- 关军锋(1999).  $\text{Ca}^{2+}$  对苹果果实细胞膜透性、保护酶活性和保护物质含量的影响. 植物学通报, 16 (1): 72~74
- 关军锋, 于凤鸣(1998). 渗钙对‘伏’苹果衰老、过氧化物酶 IAA 氧化酶活性的影响. 河北农业大学学报, 3: 16~18
- 柯玉清, 张长峰(2005). 钙对果实采后生理作用及其机理研究进展. 保鲜与加工, (5): 8~10
- 李扬瑞(1987). 甘蔗叶片细胞器的  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性. 植物生理学通讯, (6): 20~21
- 刘会超, 韩振海, 许雪锋(2002). 外源钙对苹果果实乙烯生成的影响. 园艺学报, 29 (3): 258~260
- 肖红梅, 王薛修(1996). 钙处理对桃采后生理和贮藏品质的影响. 南京农业学报, 19 (3): 122~129
- 张大鹏, 张子莲, 贾文锁(1998). 果实成熟激素信息的细胞识别和胞内信号转导研究进展. 果实生理与分子生物学, 7: 58~63
- 张建军, 关军锋(1998). 渗钙对新红星苹果品质、生理生化特性及超微结构的影响. 华北农学报, (增刊): 76~80
- 庄伊美(1994). 柑橘营养与施肥. 北京: 农业出版社
- 宗会, 胡文玉(1998). 涂膜苹果在贮藏期间钙信使组分的变化. 园艺学报, 25 (2): 187~188
- Brady CJ, Mcglasson WB, Pearson JA, Meldrum SK, Kopeliovitch E (1985). Interactions between the amount and molecular forms of polygalacturonase, calcium, and firmness in tomato fruit. J Am Soc Hort Sci, 110: 254~258
- Ferrol N, Bennett AB (1996). A single gene may encode differentially localized  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPases in tomato. Plant Cell, 8: 1159~1169
- Tieman DM, Handa AK (1994). Reduction in pectin methylesterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits. Plant Physiol, 106: 429~436