

草莓果实成熟软化机理的研究进展

张云婷, 汤浩茹*, 陈清, 罗娅, 张勇

四川农业大学园艺学院, 四川成都611130

摘要: 草莓果实的成熟软化是一个复杂的生理代谢过程。随着果实成熟度的增加, 草莓开始软化, 原果胶在原果胶酶的作用下逐渐转化为可溶性果胶, 并与纤维素分离, 由此引起细胞间结合力下降, 导致果实硬度减小; 内含物如可溶性固形物、糖、花青素、Vc等含量增加, 糖酸比值等降低; 作为非呼吸跃变型果实, 在成熟衰老过程中草莓呼吸速率有所不同, 但变化不明显; 同时, 果实中脱落酸、乙烯等内源激素的含量也发生着变化。这些变化是由多种与果实成熟软化相关的胞壁酶相互协调共同作用的结果。本文将综合前人的研究成果, 对草莓果实成熟软化机理及相关调控基因的研究作进一步综述。

关键词: 非跃变型; 草莓; 内源激素; 相关基因

Research Progress in the Mechanism of Ripening and Softening of Strawberry

ZHANG Yun-Ting, TANG Hao-Ru*, CHEN Qing, LUO Ya, ZHANG Yong

College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: It is a complex physiological process about ripening and softening of strawberry. With the increase of fruit maturity, protopectin is gradually transformed into soluble pectin by the activities of protopectinase, and separated from cellulose, which lead to the decrease of binding capacity between cells. The fruit firmness and sugar-acid ratio decrease. However, inclusions, such as soluble solids, sugar, anthocyanins, and Vc increase. The strawberry, as a non-climacteric fruit, respiration rate almost unchanged, while the contents of endogenous hormones such as abscisic acid, ethylene are changing. These changes result from the interaction between a variety of cell wall enzymes associated with fruit ripening and softening. We consolidated the results of previous studies, the mechanism of maturation and softening of strawberry fruit and related regulating-genes for further review.

Key words: non-climacteric; strawberry; endogenous hormones; related genes

果实的成熟和软化是果实发育进程中的两个阶段, 果实的完全成熟即是衰老(软化)的开始。在这两个阶段果实会发生一系列复杂的生理生化变化, 主要是细胞壁和中胶层的降解, 而多聚半乳糖醛酸酶、果胶酯酶、果胶裂解酶等胞壁酶起着相互协调的作用(朱明月等2005)。

草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.)从成熟到软化时间短, 不耐运输, 不易储藏, 经济损失严重。同时, 草莓在成熟过程中无特定的呼吸峰和乙烯峰, 是研究非跃变型果实成熟软化分子机理的模式植物(蒋天梅等2011; Chai等2011), 也是继番茄之后把大量有关成熟基因用于基因功能分析和转基因研究的又一重要水果(Mercado等2011; Posé等2011)。本文将总结草莓成熟软化的生理生化、与成熟软化相关的胞壁酶基因以及激素与胞壁酶及其基因相互作用等方面的研究进展, 其目的是进一步明确草莓的成熟软化机理, 为调控草莓及其它非呼吸跃变型果实的成熟软化, 采后生理等提供参考。

1 草莓果实成熟软化的生理生化变化

1.1 硬度和内含物等的变化

果实成熟软化的程度主要用果实的硬度来反映。果实硬度主要取决于构成果实细胞的紧张度及其细胞壁的完整性, 其中构成细胞壁的纤维素和果胶的含量及其存在形态起着关键作用(Huber 1983; Trainotti等2001)。研究发现随着草莓果实成熟, 可溶性果胶含量不断增加, 果实硬度降低逐渐软化(赵青华2007), 采后草莓随着贮藏时间的延长硬度急剧下降(赵秀洁等2014)。具有不同遗传背景的草莓的硬度变化有所差异, ‘章姬’、‘红颊’、‘申旭二号’、‘枊乙女’和‘鬼怒甘’中, ‘枊乙女’硬度最大, 其次为‘鬼怒甘’和‘红颊’, ‘章姬’最软(王天文等2008)。

收稿 2014-12-05 修定 2015-03-24

资助 高等学校博士学科点专项科研基金(20125103110005)。

* 通讯作者(E-mail: htang@sicau.edu.cn; Tel: 0835-2882515)。

草莓属于极易软化腐烂的非呼吸跃变型果实,在成熟衰老过程中草莓呼吸速率有所不同,但变化不明显(顾采琴2003)。果实的内含物包括可溶性固形物、糖、酸、维生素、色素、蛋白质、丹宁和芳香物质等。在果实的成熟软化过程中这些成分都发生不同程度的变化,较显著的是可溶性固形物及糖酸含量。随着草莓果实成熟度的增加,糖和花青素含量增加,糖酸比值先降低而后逐渐变大(贾海锋2013;李莉等2006)。在此期间可溶性固形物和Vc含量均逐渐增加(顾采琴和朱冬雪1998)。同时,罗娅和汤浩茹(2011)分析草莓成熟衰老过程中物质变化时发现,在草莓果实发育前期(转红面积为整个果实的1/4之前),花青素含量甚微或无法检出,但随着果实的成熟,花青素与Vc含量逐渐增加,这可能与果实成熟软化过程中的抗氧化能力相关。

1.2 内源激素的变化

1.2.1 脱落酸

多年来的研究表明,脱落酸(abscisic acid, ABA)对非呼吸跃变型果实的成熟起关键作用,它有助于草莓、葡萄等的着色软化,外源ABA可提高纤维素酶等活性,导致细胞壁结构解体,使果实的成熟软化过程加快,并促进乙烯的生成(尹金华等2001;曾勤和袁海波2012)。因此,它可能是非跃变果实成熟的重要启动因子。植物ABA生物合成一般经过C₁₅直接途径和C₄₀间接途径。ABA缺失突变体和同位素示踪等分子生物学实验表明C₄₀间接途径是高等植物ABA合成的主要途径(刘廷旭2012),该过程9-顺式-环氧类胡萝卜素双氧合酶(9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED)是ABA合成的限速酶(Tan等1997; Chernys和Zeevaart 2000)。ABA被氧化或被结合物耦联后将失去活性,而研究表明CYP707A基因编码的ABA 8'-羟化酶是调控ABA氧化途径的关键酶(Saito等2004)。因此,ABA在植物中的含量是由NCED和ABA 8'-羟化酶(CYP707A)共同决定的,在GenBank中已经登录FaNCED1、FaNCED2和FaCYP707A1等基因。草莓果实发育过程中ABA含量出现2次高峰,期间有一个下降过程,但总体呈增加的趋势,ABA含量变化不仅跟FaNCED1表达变化一致,还与果实色泽变化及蔗糖含量变化相一致(Jia等2011;朱海生等2012),Symons等(2012)发现ABA随果实发

育成熟含量不断的增高,没有下降的过程,这可能是草莓进行时期划分时造成的差异,但以上结果明显表明ABA对草莓果实成熟和品质形成起重要作用。外源ABA处理能促进内源ABA的合成,提高果实呼吸强度,从而促进草莓、葡萄和荔枝等非乙烯跃变型果实软化、着色、糖分积累等(吴有梅等1992;尹金华等2001;张大鹏等1997)。ABA信号的细胞内转导起始于ABA信号路径中最上游的组分即ABA受体对ABA信号的感知。近年来,含有START特征区的PYR/PYL/RCAR (Ma等2009; Nishimura等2009; Park等2009; Fujii等2009),位于细胞质膜上G蛋白偶联受体GCR2、GTG1和GTG2,定位于质体/叶绿体的ABAR/CHLH (Shen等2006)等三类ABA受体以及PP2C、SnRK2等核心组分的发现(Hubbard等2010; Santiago等2012; 胡帅等2012)使ABA代谢及信号转导途径的研究取得了突破性进展,该过程也逐步清晰(图1)。伴随这些重大发现,在果实中的相关研究虽取得了进步,但在非跃变型果实中的ABA受体及其信号转导机制的起步较晚,目前在草莓上鉴定了FaABAR/CHLH和Fa-PYR1等受体(贾海锋等2011; Chai等2011)。

1.2.2 乙烯

果实在成熟软化过程中会伴有内源激素的变化。一般认为启动跃变型果实成熟衰老的激素是乙烯,所以关于乙烯与果实成熟衰老研究大多集中在跃变型果实,而像草莓等非跃变型果实成熟时没有或很少有乙烯生成,因而认为乙烯在其成熟衰老中的作用有限。近年研究发现,非跃变型果实诸多与成熟相关的品质如香味、色泽和质地等都可能受到内源或外源乙烯调控(Chervin等2008),乙烯处理草莓白果期后,其花青素合成加速,苯丙氨酸解氨酶(PAL)和 β -Gal活性提高,使其红色加深,软化和腐烂加速,而乙烯受体竞争性抑制剂1-甲基环丙稀(1-methylcyclopropene, 1-MCP)处理同时期的草莓果实则效果完全相反,尤其显著抑制了果实花青苷及其他酚类物质的合成以及PAL和PG活性,从而维持采后果实硬度和颜色(Jiang等2001; Bower等2003; Villarreal等2010)。同时,乙烯能够使果胶甲酯酶(PME)、 β -半乳糖苷酶(β -Gal)和 β -木糖苷酶(β -Xyl)的表达下调(Trainotti等2001; Bustamante等2009; Castillejo等2004)。由

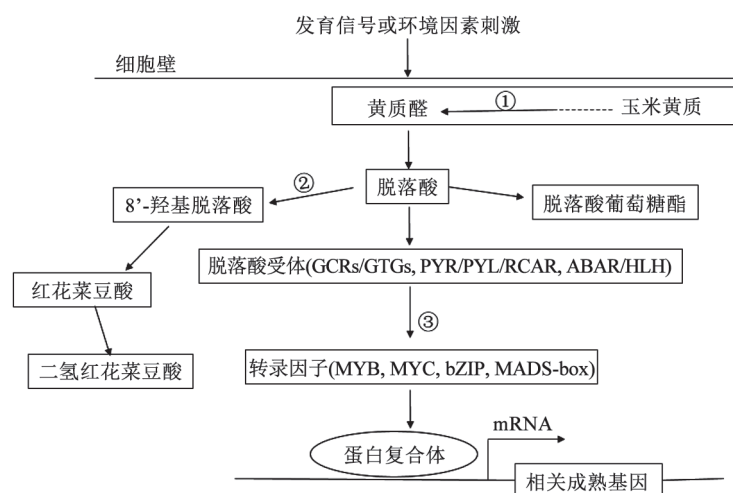


图1 ABA合成代谢及信号转导途径

Fig.1 ABA synthesis metabolism and signal transduction pathways

参考Xiong和Zhu (2003)、沈元月(2010)等文献修改。①: 9-顺式-环氧类胡萝卜素双氧合酶; ②: ABA 8'-羟化酶; ③: ABA信号传导过程中的核心组分(CDPKs、SnRK2/PP2C、MAPKs)。

此表明, 乙烯对非跃变型果实成熟衰老的调控不应忽视。草莓果实中所产生的内源乙烯含量是非常低的($15\sim 80 \text{ nL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), 从绿果期到红果期呈现出先降后升的趋势(Abeles和Takeda 1990)。乙烯含量的这种变化趋势在后来的研究中也得已验证(Iannetta等2006; Perkins-Veazie等1996)。目前, 乙烯生物合成途径已经清楚, 相关信号转导模型初步建立(Giovannoni 2007; Yang和Hoffman 1984)。在草莓中, 已经克隆出2个与乙烯合成有关的基因(*FaACO1*和*FaACO2*)和3个乙烯受体基因(*FaEtr1*、*FaErs1*和*FaEtr2*), 它们的表达与草莓果实成熟过程显著相关(Trainotti等2005)。Sun等(2013)研究发现, 在草莓着红色过程中, *FaSAMS1*和*FaCTR1*表达量上调并且乙烯含量增加, 并应用烟草脆裂病毒诱导的基因沉默技术抑制了果实着红色和硬度的减低, 而乙烯利的施用能促进草莓果实着红色和软化, 并在一定程度上恢复RNAi果实着色。上述研究结果表明, 少量乙烯的产生能够影响草莓果实的成熟衰老, 可能与它内在高水平的乙烯信号转导元件转录过程有关, 似乎也说明非跃变型果实草莓有较强的乙烯信号转导响应系统。

1.2.3 其它激素

IAA调节草莓果实的发育可以通过它与瘦果的关系体现, 去掉果实全部花托上的瘦果(种子), 肉质花托就停止生长, 再用萘氧乙酸(NOA)处理花

托, 花托又能发育成正常大小和形状果实, 这也证实瘦果的存在对草莓花托的膨大是必须的(Nitsch 1950), 发育后期瘦果提供的生长素量的逐渐减低是果实成熟的基础(Given等1988)。Symons等(2012)发现随着草莓果实发育, IAA的含量降低, 白果到红熟期几乎没有IAA含量; 同时, 在白果期NAA处理抑制果实的成熟, 而生长素抑制剂PCIB却促进了果实的着色成熟, 这跟前人的研究结果一致。以上证据显示IAA可能是控制草莓或其他非跃变型果实成熟的又一重要激素。果实中赤霉素和细胞分裂素的含量尽管远低于生长素的含量, 人们很少关注它们在果实成熟中作用, 研究表明赤霉素和细胞分裂素在草莓中与生长素的变化大致相似, 瘦果中的含量远高于花托中, 它有助于果实的膨大以及品质的改善(Csukasi等2011; Symons等2012; 单守明等2008; 原牡丹2010)。

以上说明, 激素对草莓等果实成熟软化起着至关重要的作用, 有些激素虽然很微量但不能缺少, 否则果实就不能顺利完成这一正常的生理过程。

2 与果实成熟软化相关的胞壁酶基因的研究

2.1 多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)基因

PG是一种水解酶, 可以催化果胶分子中1,4-2-D-半乳糖苷键的裂解, 导致细胞壁解体, 使果实软化。根据作用方式不同, PG分为内切PG (endo-PG) 和外切PG (exo-PG), endo-PG对底物的特异性较强,

exo-PG则较弱。对来自不同物种与果实成熟软化相关的PG进行分析表明,果实中大部分PG基因是endo-PG基因,草莓等较少物种的PG基因是exo-PG基因(魏潇等2011),这似乎印证了PG在草莓软化过程中重要性不大的结论(Huber 1984; Nogata等1996)。但随着FaPG1、FaPG2和T-PG被克隆并在草莓成熟过程中呈上调趋势(Quesada等2009; Salentijn等2003; Villarreal等2008);周厚成等(2013)对‘丰香’草莓果实不同发育时期构建SSH文库并进行相关基因表达分析,其中PG在白果期已有表达,粉红期迅速升高达到最大,全红期开始下降,这与智利草莓(*Fragaria vesca*) PG基因表达量随果实成熟逐渐上升的表达模式略有不同(Pimentel等2010);FaPG1反义转化沉默后能明显降低草莓果实软化程度等一系列研究表明(Posé等2013; Quesada等2009),PG在草莓果实软化过程中可能具有重要的作用。推测草莓等果实存在特有的PG基因祖先,而PG对其成熟软化是否存在特有的作用机制有待探讨。同时,因PG的功能只是降解果胶酸,将可溶性果胶酸水解为半乳糖醛酸。功能基因分离的研究也表明,单独的PG不足以对组织产生明显的影响,它可能是与其它因素协同发挥作用。

2.2 果胶酯酶(pectinesterase, PE)基因

研究者曾认为PE并不是果实软化中关键的酶(Tieman等1992),但这并不能消除该酶参与了果实软化机制的可能性。一般认为,在植物中PE的作用是水解果胶分子链上半乳糖醛酸羧基上的酯化基团(主要是羟甲基,PE也称为果胶甲酯酶),脱酯化形成的果胶酸,增加果胶在水中的溶解度,从而造成适于PG作用的条件(Huber 1983)。PE在植物果实和其它组织中存在多种同工酶,单个同工酶可以通过物理和生化特性区别(Bordenave 1996; Gaffe等1994)。分子研究证明,PE在多基因家族的成员表达模式不同(Giovane等1990)。Castillejo等(2004)在二倍体草莓中克隆了FaPE1、FaPE2、FaPE3和FaPE4,通过Southern杂交分析发现,得到的每个FaPE都是由单个基因所编码;通过Northern分析表明,只有FaPE1在草莓果实成熟后期中有较高表达,且在转色期最高。Quesada等(2008)却发现FaPE1表达高峰提前。在转基因草莓中,FaPE1不仅能产生去甲酯化的蛋白质,而且还具有

使果胶溶解、产生部分脱甲基化寡聚半乳糖醛酸和促进FaPG1的作用(Osorio等2011)。PE在果实成熟阶段受生长素诱导,而受乙烯的影响下调(Castillejo等2004),这可能是IAA控制草莓或其他非跃变型果实成熟软化的又一重要证据。PE活性不但在不同树种间有着较大的不同(Ali等2004; Nunan等2001),而且在同一树种不同品种间也存在着显著差异(Iannetta等1998),所以PE在促进果实软化方面的具体作用还有待探究。

2.3 果胶裂解酶(pectate lyase, PL)基因

PL通过 β -转移和消除机制作用于果胶物质,随机裂解高等植物中胶层和初生细胞壁的 β -1,4-半乳糖醛酸残基,因而又称为果胶酸反式消除酶(pectate transeliminase),其主要功能是在果实成熟过程中参与果胶结构的裂解以达到果实软化的目的(Marín-Rodríguez等2002)。在草莓中,Benítez-Burraco等(2003)克隆到3个在果实中特异表达的PL基因。将反义PL基因转入草莓会明显抑制果实由白变红的成熟过程,当完全成熟阶段,其果实硬度大大提高,而果实的颜色和外形没有明显变化,而在重量上有较大差异(Jiménez-Bermúdez等2002; Santiago-Doménech等2008)。此外,有研究表明,反义PL基因转入还会明显增加草莓的坐果率(Youssef等2009)。Youssef等(2013)将分别编码果胶裂解酶和葡聚糖酶的FapIC和FaEG3串联反义转化到草莓植株中以研究两基因的累加效应,但草莓果实的软化未与FaEG3基因表达的抑制相关,而受到FapIC表达下调的影响,这跟其他学者的研究结果有所差异(Lee和Kim 2011; Spolaore等2003)。

2.4 纤维素酶(cellulases, Cel)基因

Cel对羧甲基纤维素、木葡聚糖和具有葡聚糖结构的物质表现活性,因此有些文献称为葡聚糖酶。纤维素是细胞壁的骨架物质,它的降解意味着细胞壁的解体 and 果实软化(Huber 1983)。在桃、番茄、梨和鳄梨果实成熟软化过程中Cel起主要作用(Awad和Young 1979; 茅林春和张上隆2001),而在芒果中Cel活性与果实硬度呈显著负相关(石海燕和冯双庆1997)。橘果中Cel活性变化趋势与PG相似,贮藏前期活性缓慢增加,后期则迅速增加(叶钢和缪颖1993)。在未成熟的草莓果实中

很难检测到Cel的活性,而在成熟的草莓果实中则具有Cel的活性,且Cel的活性随着草莓果实的成熟而增强。Barnes和Patchett (1976)以及Huber (1983)认为,草莓果实的软化主要是Cel而不是PG的作用(Abeles和Takeda 1990; Barnes和Patchett 1976; Huber 1983)。

2.5 膨胀素(expansin, EXP)基因

EXP也称作扩张素或扩张蛋白,是一种引起植物细胞壁松弛的蛋白质,在植物细胞伸展以及一系列涉及细胞壁修饰的生命活动中起着关键作用(McQueen-Mason和Cosgrove 1994; McQueen-Mason 1995)。自Rose等(1997)从番茄果实中克隆出第一个与果实成熟相关的特异XEP基因*leEXP1*以来,已先后从草莓(Civello等1999; Dotto等2006; Harrison等2001)、梨(Hiwasa等2003)、番木瓜(牛艳梅等2008)和荔枝(陆旺金和蒋跃明2003)等非跃变型果实中克隆出多个EXP基因。EXP是一个超基因家族,依据EXP在系统发生中的关系分为4个家族,即 α -expansin (EXPA)、 β -expansin (EXPB)、expansin-like A (EXLA)和expansin-like B (EXLB); EXP在果实中的作用分为两大类型,一类与果实的生长膨大有关,如番茄*leEXP2*、3、4、5、6、7和草莓*FaEXP3*、4、6、7;另一类与果实完熟有关,如番茄*leEXP1*、草莓*FaEXP1*、2、5和猕猴桃*AdEXP1* (Brummell等1999; Dotto等2006; Harrison等2001; Rose和Bennett 1999; 杨绍兰等2007)。在草莓中,不同品种由于硬度的差异,*FaEXP1*、*FaEXP2*和*FaEXP5*表达模式不同,其在软质草莓果实的表达丰度高于硬质草莓品种(Dotto等2006)。其中,*FaEXP2*和*FaEXP5*是果实特异表达基因,只在成熟果实(花托)中表达。有趣的是,在Civello等(1999)的研究中发现*FaEXP2* mRNA水平不受生长素处理的影响,并且对乙烯不敏感,推测它可能是调控草莓果实成熟时非跃变信号的一个有价值的报告基因。多个研究表明,EXP成员对果实成熟软化影响不同,特别是在在负责跃变型和非跃变型果实成熟软化相关EXP基因的差异以及内在机制方面需要深入研究。同时,不同的EXP基因可能负责不同品种的软化速率,结合不同质地的品种细胞壁降解酶活性差异,可能有助于证明扩张蛋白在果实软化中的作用。

此外,胞壁酶中的木葡聚糖内糖基转移酶(XET)以及糖苷酶类如 β -半乳糖苷酶(β -Gal)、 α -阿拉伯呋喃糖苷酶(α -Af)等与果实成熟软化也相关。XET是一种能引起细胞壁膨胀疏松的酶,而糖苷酶是一类与细胞壁多糖组分降解相关的酶,但对它们的研究报道较少,它们对果实成熟软化的作用及其作用机理还有待进一步研究。

3 展望

果实成熟软化是一个非常复杂的过程,包括细胞生理代谢和相关基因的表达。受成熟引发,植物内源激素发生变化,受体识别该信号后,进行信号转导,转导过程中通过相关转录因子或第二信使引起蛋白激酶活性变化的级联反应,影响与成熟软化相关基因的表达(提高酶活性),从而引起果实产生成熟软化的生理效应。该过程激素之间的相互作用机制还不太清楚,特别是在非跃变型果实中ABA和乙烯之间的关系有待进一步理清,同时在受体的鉴定以及信号转导路径方面需要更加深入的研究。对于不同品种和同一品种果实的不同发育阶段,激素和酶的作用是存在差异的,所以调节果实对激素的敏感性,能够有效控制果实的成熟软化进程。关于草莓成熟衰老分子机制的研究目前已取得一定进展,然而,对导致果实成熟软化的关键酶和基因还存在争议,各种酶是如何分工协调,与激素有怎样的具体互作机制?所以将来的研究可以集中在利用基因沉默、基因诱导过表达、酵母杂交、基因敲出及定点突变(如新型的CRISPR/Cas9技术)等挖掘更多有关果实软化的基因以及它们的具体功能。此外,基于草莓转化再生体系相对成熟,利用转基因以及转录本和蛋白质水平的表达调控等研究手段可进一步阐明激素调控果实成熟、衰老的内在作用机制。同时,可具体探究草莓果实成熟软化过程中主要成分的改变,细胞壁结构变化及降解顺序,进而采取相应的措施延长果实的采后寿命。

参考文献

- 顾采琴(2003). Ca^{2+} 、CaM及其目标酶与乙烯诱导番茄和草莓果实成熟衰老关系的研究[学位论文]. 杭州: 浙江大学
- 顾采琴,朱冬雪(1998). 草莓成熟过程中生理生化特性的变化. 山地农业生物学报, 17 (6): 37~40
- 胡帅,王芳展,刘振宁,刘亚培,余小林(2012). PYR/PYL/RCAR蛋白介导植物ABA的信号转导. 遗传, 34 (5): 560~572

- 贾海锋(2013). 蔗糖及茉莉酸信号在草莓果实发育中的作用及其机理分析[学位论文]. 北京: 中国农业大学
- 贾海锋, 柴叶茂, 李春丽, 董清华, 秦岭, 沈元月(2011). 草莓果实中脱落酸受体基因*FaABAR/CHLH*表达变化及其影响因素分析. 园艺学报, 38 (9): 1650~1656
- 蒋天梅, 殷学仁, 王平, 孙崇德, 徐昌杰, 李鲜, 陈昆松(2011). 乙烯调控非跃变型果实成熟衰老研究进展. 园艺学报, 38 (2): 371~378
- 李莉, 杨雷, 杨莉, 郝保春(2006). 草莓果实生长发育及主要营养成分变化规律研究. 江西农业学报, 18 (2): 67~70
- 刘廷旭(2012). ABA对桃果实成熟软化和乙烯释放信号转导组分的影[学位论文]. 杨凌: 西北农林科技大学
- 陆旺金, 蒋跃明(2003). 荔枝果实两个膨大素基因的克隆与序列分析. 中国农业科学, 36 (12): 1525~1529
- 罗娅, 汤浩茹(2011). ‘丰香’草莓果实发育过程中抗氧化物质与活性氧代谢研究. 园艺学报, 38 (8): 1523~1530
- 茅林春, 张上隆(2001). 果胶酶和纤维素酶在桃果实成熟和絮败中的作用. 园艺学报, 28 (2): 107~111
- 牛艳梅, 沈文涛, 卢雅薇, 周鹏(2007). 番木瓜果实膨胀素基因部分序列的克隆及分析. 热带作物学报, 28 (4): 47~50
- 单守明, 刘国杰, 李绍华, 苗鹏飞(2008). 二烷基基乙醇羧酸酯对草莓光合作用和果实品质的影响. 园艺学报, 35 (4): 587~590
- 沈元月(2010). 葡萄果实成熟过程中ABA信号传导研究进展. 果树学报, 27 (5): 778~783
- 石海燕, 冯双庆(1997). 气调贮藏对‘紫花’芒果 PG, 纤维素酶及果实硬度的影响. 园艺学报, 24 (4): 407~409
- 王天文, 钟霖霖, 乔荣(2008). 草莓新品种红颊的引种试验研究. 种子, 27 (5): 73~75
- 魏潇, 刘威生, 刘宁, 章秋平, 张玉萍, 刘硕, 刘有春(2011). 果实软化相关PG基因的进化分析和基因组定位. 园艺学报, 38 (9): 1791~1799
- 吴有梅, 顾采琴, 邵根福, 刘愚(1992). ABA和乙烯在草莓采后成熟衰老中的作用. 植物生理学报, 18 (2): 167~172
- 杨绍兰, 陈妙金, 张波, 李鲜, 徐昌杰, 陈昆松(2007). 乙酰水杨酸调控猕猴桃果实后熟软化进程中的*Ad-EXPI*基因表达. 果树学报, 24 (6): 778~782
- 叶钢, 缪颖(1993). 桔果采后钙处理对纤维素酶和果胶酶的影响. 浙江农业大学学报, 19 (4): 450~454
- 尹金华, 高飞飞, 胡桂兵, 祝曙华(2001). ABA和乙烯对荔枝果实成熟和着色的调控. 园艺学报, 28 (1): 65~67
- 原牡丹(2010). 草莓果实发育过程中糖及类黄酮对生长素的响应[学位论文]. 北京: 北京林业大学
- 曾勤, 袁海波(2012). 脱落酸对非跃变型果实成熟的促进效应. 北方园艺, (1): 181~183
- 张大鹏, 许雪峰, 张子连, 贾文锁(1997). 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. 园艺学报, 24 (1): 1~7
- 赵青华(2007). 草莓果实成熟过程中细胞壁组分变化的研究. 食品与药品, 9 (6): 27~28
- 赵秀洁, 吴海伦, 潘磊庆, 屠康(2014). 基于电子鼻技术预测草莓采后品质. 食品科学, 35 (18): 105~109
- 周厚成, 李刚, 赵霞, 王子成, 郭蔼光(2013). 草莓果实不同发育阶段抑制差减文库(SSH)的构建及相关基因的表达分析. 农业生物技术学报, 21 (6): 641~649
- 朱海生, 温庆放, 李永平, 林琿, 陈敏氢, 李严曼(2012). ABA对草莓果实成熟和软化的调节. 福建农业学报, 27 (4): 329~332
- 朱明月, 沈文涛, 周鹏(2005). 果实成熟软化机理研究进展. 分子植物育种, 3 (3): 421~426
- Abeles FB, Takeda F (1990). Cellulase activity and ethylene in ripening strawberry and apple fruits. *Sci Hort*, 42: 269~275
- Ali ZM, Chin L, Lazan H (2004). A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Sci*, 167: 317~327
- Awad M, Young RE (1979). Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase, and pectinmethylesterase in avocado (*Persea americana* Mill, cv. Fuerte) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiol*, 64: 306~308
- Barnes MF, Patchett BJ (1976). Cell wall degrading enzymes and the softening of senescent strawberry fruit. *J Food Sci*, 41: 1392~1395
- Bordenave M (1996). Analysis of pectin methyl esterases. In: *Plant Cell Wall Analysis*. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 165~180
- Bower JH, Biasi WV, Mitcham EJ (2003). Effects of ethylene and 1-MCP on the quality and storage life of strawberries. *Postharvest Biol Tech*, 28: 417~423
- Brummell DA, Harpster MH, Dunsmuir P (1999). Differential expression of expansin gene family members during growth and ripening of tomato fruit. *Plant Mol Biol*, 39: 161~169
- Bustamante CA, Civello PM, Martínez GA (2009). Cloning of the promoter region of β -xylosidase (*FaXyl1*) gene and effect of plant growth regulators on the expression of *FaXyl1* in strawberry fruit. *Plant Sci*, 177: 49~56
- Castillejo C, de la Fuente JI, Iannetta P, Botella MÁ, Valpuesta V (2004). Pectin esterase gene family in strawberry fruit: study of *FaPE1*, a ripening-specific isoform. *J Exp Bot*, 55 (398): 909~918
- Chai Y, Jia H, Li C, Dong Q, Shen Y (2011). *FaPYR1* is involved in strawberry fruit ripening. *J Exp Bot*, 62 (14): 5079~5089
- Chernys JT, Zeevaart JA (2000). Characterization of the 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene family and the regulation of abscisic acid biosynthesis in avocado. *Plant Physiol*, 124 (1): 343~354
- Chervin C, Tira Umphon A, Terrier N, Zouine M, Severac D, Roustan JP (2008). Stimulation of the grape berry expansion by ethylene and effects on related gene transcripts, over the ripening phase. *Physiol Plant*, 134: 534~546
- Civello PM, Powell ALT, Sabehat A, Bennett AB (1999). An expansin gene expressed in ripening strawberry fruit. *Plant Physiol*, 121: 1273~1279
- Csukasi F, Osorio S, Gutierrez JR, Kitamura J, Gialalisco P, Nakajima M, Fernie AR, Rathjen JP, Botella MA, Valpuesta V et al (2011). Gibberellin biosynthesis and signalling during development of the strawberry receptacle. *New Phytol*, 191: 376~390
- Dotto MC, Martínez GA, Civello PM (2006). Expression of expansin genes in strawberry varieties with contrasting fruit firmness. *Plant Physiol Bioch*, 44: 301~307
- Fujii H, Chinnusamy V, Rodrigues A, Rubio S, Antoni R, Park S, Cutler SR, Sheen J, Rodriguez PL, Zhu J et al (2009). *In vitro*

- reconstitution of an abscisic acid signalling pathway. *Nature*, 462 (7273): 660~664
- Gaffe J, Tieman DM, Handa AK (1994). Pectin methylesterase isoforms in tomato (*Lycopersicon esculentum*) tissues (effects of expression of a pectin methylesterase antisense gene). *Plant Physiol*, 105: 199~203
- Giovane A, Quagliuolo L, Castaldo D, Servillo L, Balestrieri C (1990). Pectin methyl esterase from *Actinidia chinensis* fruits. *Phytochemistry*, 29 (9): 2821~2823
- Giovannoni JJ (2007). Fruit ripening mutants yield insights into ripening control. *Curr Opin Plant Biol*, 10: 283~289
- Given NK, Venis MA, Gierson D (1988). Hormonal regulation of ripening in the strawberry, a non-climacteric fruit. *Planta*, 174: 402~406
- Harrison EP, McQueen-Mason SJ, Manning K (2001). Expression of six expansin genes in relation to extension activity in developing strawberry fruit. *J Exp Bot*, 52 (360): 1437~1446
- Hiwasa K, Rose JK, Nakano R, Inaba A, Kubo Y (2003). Differential expression of seven α -expansin genes during growth and ripening of pear fruit. *Physiol Plant*, 117 (4): 564~572
- Hubbard KE, Nishimura N, Hitomi K, Getzoff ED, Schroeder JI (2010). Early abscisic acid signal transduction mechanisms: newly discovered components and newly emerging questions. *Gen Dev*, 24 (16): 1695~1708
- Huber DJ (1983). The role of cell wall hydrolases in fruit softening. In: *Horticultural Reviews*. Westpoint: The AVI Publishing Company Inc, 5: 169~219
- Huber DJ (1984). Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicelluloses. *J Food Sci*, 49 (5): 1310~1315
- Iannetta PPM, Jones C, Stewart D, Taylor MA, McNicol RJ, Davies HV (1998). Multidisciplinary approaches and the improvement of fruit quality in red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Plant Bioch Phytoch*, 99~103
- Iannetta PP, Laarhoven LJ, Medina Escobar N, James EK, McManus MT, Davies HV, Harren FJ (2006). Ethylene and carbon dioxide production by developing strawberries show a correlative pattern that is indicative of ripening climacteric fruit. *Physiol Plant*, 127 (2): 247~259
- Jia HF, Chai YM, Li CL, Lu D, Luo JJ, Qin L, Shen YY (2011). Abscisic acid plays an important role in the regulation of strawberry Fruit Ripening. *Plant Physiol*, 157 (1): 188~199
- Jiang YM, Joyce DC, Terry LA (2001). 1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. *Postharvest Biol Tech*, 23: 227~232
- Jiménez-Bermúdez S, Redondo-Nevado J, Muñoz-Blanco J, Caballero JL, López-Aranda JM, Valpuesta V, Pliego-Alfaro F, Quesada MA, Mercado JA (2002). Manipulation of strawberry fruit softening by antisense expression of a pectate lyase gene. *Plant Physiol*, 128 (2): 751~759
- Lee YK, Kim IJ (2011). Modulation of fruit softening by antisense suppression of endo- β -1,4-glucanase in strawberry. *Mol Breed*, 27 (3): 375~383
- Liu XG, Yue YL, Li B, Nie YL, Li W, Wu WH, Ma LG (2007). A G protein-coupled receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid. *Scienceexpress*, 315 (5819): 1712~1716
- Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A, Grill E (2009). Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science*, 324 (5930): 1064~1068
- Marín-Rodríguez MC, Orchard J, Seymour GB (2002). Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening. *J Exp Bot*, 53 (377): 2115~2119
- McQueen-Mason S, Cosgrove DJ (1994). Disruption of hydrogen bonding between plant cell wall polymers by proteins that induce wall extension. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91 (14): 6574~6578
- McQueen-Mason SJ (1995). Expansins and cell wall expansion. *J Exp Bot*, 46 (292): 1639~1650
- Mercado JA, Pliego-Alfaro F, Quesada MA (2011). Fruit shelf life and potential for its genetic improvement. In: *Breeding for Fruit Quality*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 81~104
- Nishimura N, Hitomi K, Arvai AS, Rambo RP, Hitomi C, Cutler SR, Schroeder JI, Getzoff ED (2009). Structural mechanism of abscisic acid binding and signaling by dimeric PYR1. *Science*, 326 (5958): 1373~1379
- Nitsch JP (1950). Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin. *Am J Bot*, 37: 211~215
- Nogata Y, Yoza K, Kusumoto K, Ohta H (1996). Changes in molecular weight and carbohydrate composition of cell wall polyuronide and hemicellulose during ripening in strawberry fruit. *Pro Biotechnol*, 14: 591~596
- Nunan KJ, Davies C, Robinson SP, Fincher GB (2001). Expression patterns of cell wall-modifying enzymes during grape berry development. *Planta*, 214 (2): 257~264
- Osorio S, Bombarely A, Giavalisco P, Usadel B, Stephens C, Aragüez I, Medina-Escobar N, Botella MA, Fernie AR, Valpuesta V (2011). Demethylation of oligogalacturonides by *FaPE1* in the fruits of the wild strawberry *Fragaria vesca* triggers metabolic and transcriptional changes associated with defence and development of the fruit. *J Exp Bot*, 62 (8): 2855~2873
- Pandey S, Nelson DC, Assmann SM (2009). Two novel GPCR-type G proteins are abscisic acid receptors in *Arabidopsis*. *Cell*, 136 (1): 136~148
- Park SY, Fung P, Nishimura N, Jensen DR, Fujii H, Zhao Y, Lumba S, Santiago J, Rodrigues A, Chow TFF et al (2009). Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science*, 324 (5930): 1068~1071
- Perkins-Veazie PM, Huber DJ, Brecht JK (1996). *In vitro* growth and ripening of strawberry fruit in the presence of ACC, STS or propylene. *Ann Appl Biol*, 128: 105~116
- Pimentel P, Salvatierra A, Moya-León MA, Herrera R (2010). Isolation of genes differentially expressed during development and ripening of *Fragaria chiloensis* fruit by suppression subtractive hybridization. *J Plant Physiol*, 167 (14): 1179~1187
- Posé S, García-Gago JA, Santiago-Doménech N, Pliego-Alfaro F, Quesada MA, Mercado JA (2011). Strawberry fruit softening: role of cell wall disassembly and its manipulation in transgenic plants. *Gen Genom Genom*, 5 (1): 40~48
- Posé S, Paniagua C, Cifuentes M, Blanco-Portales R, Quesada MA,

- Mercado JA (2013). Insights into the effects of polygalacturonase *FaPG1* gene silencing on pectin matrix disassembly, enhanced tissue integrity, and firmness in ripe strawberry fruits. *J Exp Bot*, 64 (12): 3803~3815
- Quesada MA, Blanco-Portales R, Posé S, García-Gago JA, Jiménez-Bermúdez S, Muñoz-Serrano A, Caballero JL, Pliego-Alfaro F, Mercado JA, Muñoz-Blanco J (2009). Antisense down-regulation of the *FaPG1* gene reveals an unexpected central role for polygalacturonase in strawberry fruit softening. *Plant Physiol*, 150 (2): 1022~1032
- Rose JK, Bennett AB (1999). Cooperative disassembly of the cellulose-xyloglucan network of plant cell walls: parallels between cell expansion and fruit ripening. *Trends Plant Sci*, 4 (5): 176~183
- Rose JK, Lee HH, Bennett AB (1997). Expression of a divergent expansin gene is fruit-specific and ripening-regulated. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94 (11): 5955~5960
- Satio S, Hirai N, Matsumoto C, Ohigashi H, Ohta D, Sakata K, Mizutani M (2004). Arabidopsis *CYP707As* encode (+)-abscisic acid 8'-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid. *Plant Physiol*, 134 (4): 1439~1449
- Salentijn EM, Aharoni A, Schaart JG, Boone MJ, Krens FA (2003). Differential gene expression analysis of strawberry cultivars that differ in fruit-firmness. *Physiol Plant*, 118 (4): 571~578
- Santiago J, Dupeux F, Betz K, Antoni R, Gonzalez-Guzman M, Rodriguez L, Márquez JA, Rodriguez PL (2012). Structural insights into PYR/PYL/RCAR ABA receptors and PP2Cs. *Plant Sci*, 182: 3~11
- Santiago-Doménech N, Jiménez-Bermúdez S, Matas AJ, Rose JK, Muñoz-Blanco J, Mercado JA, Quesada MA (2008). Antisense inhibition of a pectate lyase gene supports a role for pectin depolymerization in strawberry fruit softening. *J Exp Bot*, 59 (10): 2769~2779
- Shen Y, Wang X, Wu F, Du S, Cao Z, Shang Y, Wang X, Peng C, Yu X, Zhu S et al (2006). The Mg-chelatase H subunit is an abscisic acid receptor. *Nature*, 443 (7113): 823~826
- Spolaore S, Trainotti L, Pavanello A, Casadoro G (2003). Isolation and promoter analysis of two genes encoding different endo- β -1,4-glucanases in the non-climacteric strawberry. *J Exp Bot*, 54 (381): 271~277
- Sun J, Luo J, Tian L, Li C, Xing Y, Shen Y (2013). New evidence for the role of ethylene in strawberry fruit ripening. *J Plant Growth Regul*, 32 (3): 461~470
- Symons GM, Chua Y, Ross JJ, Quittenden LJ, Davies NW, Reid JB (2012). Hormonal changes during non-climacteric ripening in strawberry. *J Exp Bot*, 63 (13): 4741~4750
- Tan BC, Schwartz SH, Zeevaart JA, McCarty DR (1997). Genetic control of abscisic acid biosynthesis in maize. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94 (22): 12235~12240
- Tieman DM, Harriman RW, Ramamohan G, Handa AK (1992). An antisense pectin methylesterase gene alters pectin chemistry and soluble solids in tomato fruit. *Plant Cell*, 4 (6): 667~679
- Trainotti L, Pavanello A, Casadoro G (2005). Different ethylene receptors show an increased expression during the ripening of strawberries: does such an increment imply a role for ethylene in the ripening of these non-climacteric fruits? *J Exp Bot*, 56 (418): 2037~2046
- Trainotti L, Spinello R, Piovan A, Spolaore S, Casadoro G (2001). β -Galactosidases with a lectin-like domain are expressed in strawberry. *J Exp Bot*, 52 (361): 1635~1645
- Villarreal NM, Bustamante CA, Civello PM, Martínez GA (2010). Effect of ethylene and 1-MCP treatments on strawberry fruit ripening. *J Sci Food Agri*, 90 (4): 683~689
- Villarreal NM, Rosli HG, Martínez GA, Civello PM (2008). Polygalacturonase activity and expression of related genes during ripening of strawberry cultivars with contrasting fruit firmness. *Postharvest Biol Tech*, 47 (2): 141~150
- Xiong LM, Zhu JK (2003). Regulation of abscisic acid biosynthesis. *Plant Physiol*, 133: 29~36
- Yang SF, Hoffman NE (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol*, 35: 155~189
- Youssef SM, Amaya I, López-Aranda JM, Sesmero R, Valpuesta V, Casadoro G, Blanco-Portales R, Pliego-Alfaro F, Quesada MA, Mercado JA (2013). Effect of simultaneous down-regulation of pectate lyase and endo- β -1,4-glucanase genes on strawberry fruit softening. *Mol Breed*, 31 (2): 313~322
- Youssef SM, Jiménez-Bermúdez S, Bellido ML, Martín-Pizarro C, Barceló M, Abdal-Aziz SA, Caballero JL, López-Aranda JM, Pliego-Alfaro F, Muñoz J (2009). Fruit yield and quality of strawberry plants transformed with a fruit specific strawberry pectate lyase gene. *Sci Hortic*, 119 (2): 120~125