

文章编号:1000-8551(2019)04-0664-07

不同处理对海沃德猕猴桃内源 ABA 相关代谢基因表达的影响

杜莹琳¹ 徐雅芬¹ 高贵田^{1,2,*} 曹凡¹ 李朝政¹ 张鑫¹¹ 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119;² 陕西省猕猴桃工程技术研究中心, 陕西 西安 710404)

摘要:为在分子水平阐明外源乙烯利、1-MCP 和 ABA 处理对海沃德猕猴桃内源 ABA 合成代谢的影响,并揭示 ABA 调控果实后熟机理。本研究以海沃德猕猴桃果实为试验材料,利用外源乙烯利、1-MCP 和 ABA 处理猕猴桃果实,分别运用高相液相色谱(HPLC)和 RT-qPCR 分析 20℃ 贮存条件下对猕猴桃内源 ABA 合成、信号通路相关基因 *XanDH*、*PYR/PYL*、*PP2C*、*ABF* 的表达量影响。结果表明,乙烯利处理下 *PP2C* 和 *ABF* 基因表达量在 DAH17~DAH58 都显著低于对照组,*XanDH* 和 *PYR/PYL* 在 DAH17 均显著高于对照组,而后迅速回落。在 ABA 处理下 *XanDH* 基因表达量呈先下降后上升再下降的趋势,在 DAH17 表达量最高。*PP2C* 和 *PYR/PYL* 在 DAH17 经历高峰后逐渐回落至低水平,与对照组差异显著。*ABF* 在采后前期有较高的表达量,经历峰值后急速回落,在后熟中后期表达水平较低。1-MCP 处理下,在整个后熟阶段,*XanDH* 的表达量均显著高于对照组,在 DAH17 达到最大值,随后逐渐降落。与对照组相比,*PP2C* 基因表达量持续上升,*ABF* 基因持续下调;*PYR/PYL* 在 DAH17 表达量最高而后下调,但仍显著高于对照组。表明乙烯利、1-MCP、ABA 处理对海沃德猕猴桃内源 ABA 合成、信号传导有较大影响,本试验结果为进一步探究外源乙烯利、1-MCP 和 ABA 对猕猴桃果实采后衰老的调控作用及机理提供了一定的理论依据。

关键词: 乙烯利; 1-MCP; ABA; 猕猴桃; 基因表达

DOI: 10. 11869/j.issn.100-8551. 2019. 04. 0664

乙烯是果实成熟软化过程中重要的信号分子,在果实的成熟软化过程中发挥着重要的调控作用^[1]。猕猴桃(*Actinidia chinensis* var. *deticiasa*)果实作为呼吸跃变型浆果,不耐贮藏,其对乙烯极为敏感,少量外源乙烯处理就可以促进猕猴桃果实的软化^[2]。研究表明,控制乙烯的生物合成,可延缓果实后熟阶段的进程,从而达到保鲜的目的^[3]。

猕猴桃果实的后熟软化过程分为前期的软化启动阶段和后期的快速软化阶段,乙烯在其中的主要作用是加快快速软化阶段的果实软化进程,而与软化启动阶段无明显关系^[4]。与乙烯相比,脱落酸(abscisic acid, ABA)在猕猴桃果实后熟软化过程中的作用更明显^[5]。ABA 是影响果实成熟软化进程的重要内源激

素,在模式植物番茄上的研究表明,施加外源 ABA 诱导,可以使乙烯合成途径中关键酶 1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, ACS)和 1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, ACO)的表达量提高且表达时间提前,通过 ABA 抑制剂氟啶草酮抑制 ABA 的生物合成,使 ACS 酶和 ACO 酶的基因表达量下降,表明 ABA 在调控番茄成熟软化以及乙烯的生物合成中发挥着非常重要的作用^[6]。此外,ABA 处理可以加速番木瓜果实成熟软化进程,具体表现为果实硬度起速下降和乙烯释放高峰提前,而 ABA 抑制剂氟啶草酮处理组可以抑制乙烯产生,减慢成熟软化进程^[7]。研究表明,ABA 与乙烯的大量合成密切相关,

收稿日期:2017-10-09 接受日期:2018-02-02

基金项目:陕西省农业创新与攻关项目(2016NY-188)

作者简介:杜莹琳,女,主要从事果蔬采后生理与分子生物学研究。E-mail:969510364@qq.com

* 通讯作者:高贵田,男,副教授,主要从事食品分子生物学检测、果蔬采后防腐保鲜等研究。E-mail:gaoguitian2006@snnu.edu.cn

在跃变型果实后熟软化进程中,ABA 起到了重要的调控作用^[8]。

黄质醛脱氢酶(xanthoxin dehydrogenase, XanDH)隶属于短链脱氢酶/还原酶家族,催化黄质醛转化为脱落醛(abscisyl aldehyde, ABAld),是 ABA 合成过程中非常重要的一步^[9]。2009 年, Ma 等^[10]和 Park 等^[11]分别鉴定到拟南芥中一类被命名为 PYR/PYL/RCAR 的蛋白,可能为 ABA 受体。通过酵母双杂试验发现 ABA 可以结合抗副球菌素蛋白(pyrabatin resistance, PYR)并抑制蛋白磷酸酶 2C (protein phosphatase 2C, PP2C)的合成,且证实了 PYR 可正向调节 ABA 信号传导。PP2C 是一种单体蛋白磷酸酶,植物中 PP2C 功能具有多样性^[12]。在高等植物中,PP2C 广泛参与 ABA 调控的各种信号途径,包括 ABA 诱导的种子萌发^[13]、休眠^[14]、离子通道调控^[15]、逆境胁迫^[16]等。在拟南芥中,PP2C 对 ABA 信号途径起负调控的作用^[17]。ABA 应答元件结合蛋白(ABA responsive element binding protein, ABRE)结合因子(ABRE binding factors, ABF)转录子属于碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZip)转录因子的 A 亚族,在 ABA 信号转导过程中,ABF 可被蔗糖非酵解型蛋白激酶(sucrose non-fermenting 1-related protein kinase, SnRK)磷酸化,进而开启 ABRE 的转录,通过与 ABRE 元件相互作用转录激活逆境响应基因的表达,在植物的抗逆生理过程中发挥重要作用^[18]。目前,外源乙烯利和外源 ABA 对猕猴桃后熟期内源 ABA 及果实后熟软化影响的研究已有报道^[19-20],但外源乙烯利、1-甲基环丙烯(1-methylcyclopropene, 1-MCP)和外源 ABA 处理对猕猴桃后熟衰老的分子调控机理的研究尚未见报道。因此,本研究利用乙烯利、1-MCP 和 ABA 处理猕猴桃果实,分析乙烯利、1-MCP 和 ABA 处理对猕猴桃果实内源 ABA 合成关键基因 *XanDH* 及信号转导相关基因 *PYR/PYL*、*ABF* 和 *PP2C* 在非生物胁迫下基因表达量的影响,以期为进一步探究外源乙烯利、1-MCP 以及 ABA 对猕猴桃后熟衰老的分子调控作用及机理的研究提供新的思路,同时为开发更高效的猕猴桃贮藏保鲜方法提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

猕猴桃品种为海沃德,成熟后于 2016 年 11 月 2 日采摘自陕西周至县虎峰村佰瑞猕猴桃基地,采收当天运回陕西师范大学食品生物技术实验室,挑选大小

均匀、无病虫害和机械损伤、成熟度相对一致的果实,20℃贮藏备用。所用试剂包括三氯甲烷(分析纯)、异戊醇(分析纯)、异丙醇(分析纯)、无水乙醇(分析纯)等,均购自北京威特化工有限公司;水饱和酚(分析纯)购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 乙烯利和 ABA 处理 参照陈金印等^[19]的方法,猕猴桃采后第 2 天,挑选大小均匀、无病虫害和机械损伤、成熟度相对一致的果实,分别用浓度为 50 mg·kg⁻¹的乙烯利和 50 mg·kg⁻¹的 ABA 溶液浸泡果实 2 min,每处理设 3 次生物学重复,每组平行 20 个猕猴桃(约 1.5~1.8 kg),然后将果实在实验室自然通风晾干,再用 0.04 mm 厚的 PE 袋包装标记,20℃贮藏备用。

1.2.2 1-MCP 处理 猕猴桃采后第 2 天,挑选大小均匀、无病虫害和机械损伤、成熟度相对一致的果实,将猕猴桃预冷后取出,每处理设 3 次重复,每组平行 20 个猕猴桃(约 1.5~1.8 kg)分别放入 3 个带盖塑料桶中,保持桶内 1-MCP 浓度为 1 μL·L⁻¹,室温密封 12 h 后,通风并用 0.04 mm 厚的 PE 袋包装标记,20℃贮藏。以未经处理的猕猴桃果实为对照。

1.2.3 果实硬度的测定 参照陈金印^[21]的方法,每隔 7 d 选取 6 个大小、成熟度相对一致的果实,采用 GY-3 型水果硬度计(浙江托普仪器有限公司)在每个果实赤道部位三分点处测量其硬度。

1.2.4 果实乙烯释放量测定 将 8 个猕猴桃果实(约 650 g)置于 300 mm 型干燥器(上海积坤化工科技有限公司)中,用凡士林涂抹容器边缘,确保密封性良好,静置 2~5 h。采用注射器从容器橡胶管内缓慢抽取 1.0 mL 气体,待 Agilent 6890N 气相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]的基线平稳后迅速将气体注入色谱柱进样测定。测定条件为进样口温度 100℃,火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)温度 150℃,氮气流速 20 mL·min⁻¹,氢气流速 30 mL·min⁻¹,空气流速 300 mL·min⁻¹。记录乙烯出峰时间、峰宽、峰高、峰面积,计算乙烯释放量^[22]。在乙烯释放初期与后期每隔 7 d 测一次,乙烯释放高峰前后每隔 2 d 测一次。

1.2.5 果实内源 ABA 含量测定 选取经乙烯利、ABA、1-MCP 处理后第 1(DAH1)、第 7(DAH7)、第 17(DAH17)、第 40(DAH40)、第 58 天(DAH58)5 个时期的果实样品,液氮速冻,-80℃保存备用。内源 ABA 提取工艺参照赵家昱等^[23]的方法,在色谱条件上略做改进。采用 Waters 1525 高效液相色谱仪(美国 Waters

公司)测定 ABA 含量,采用 Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm×5 μm)色谱柱(安捷伦科技有限公司),检测波长为 254 nm,流动相为甲醇:水:乙酸为45:50:5,柱温 30℃,流速 1 mL·min⁻¹,进样体积 20 μL。

1.2.6 猕猴桃果实总 RNA 的提取及反转录 参照 Jaakola 等^[24]的方法,配制缓冲液并提取 RNA,采用 Nanodrop ND-2000 型微量核酸蛋白定量测定仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]测定其浓度和纯度,结果显示 RNA 浓度介于 100~200 ng·μL⁻¹之间,A₂₆₀/A₂₃₀值大于 2.0,A₂₆₀/A₂₈₀值约 2.0,表明提取质量较好,可用于后续研究。根据反转录试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]说明书合成 cDNA 第一链,于-20℃保存备用。

1.2.7 实时荧光定量 PCR 对 ABA 生物合成基因 *XantDH*,ABA 信号转导相关基因 *PYR/PYL*、*PP2C*、*ABF*,采用 PikoReal 96 型实时定量 PCR 仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]进行实时荧光定量 PCR 分析,反应程序:95℃预变性 1 min;95℃变性 2 s,60℃延伸 20 s,45 个循环。内参基因为 18S rRNA,所用引物序列详见表 1,均由天根生化科技(北京)有限公司合成。反应体系见表 2,采用 2^{-ΔΔCt}法^[25]计算相对基因的表达量。

表 1 引物序列

Table 1 Primers sequences

基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')
18S rRNA	F:AACGAGACCTCAGCCTGCT
18S rRNA	R:CCCAGAACATCTAAGGGCA
PP2C	F:AGCGATGGTTTGTTCGACTT
PP2C	R:TTTGTTACAAGCTGCTCCA
ABF	F:ACGTGGATGAGCTTGAGGAT
ABF	R:CACCACCACTCAATTGTTGC
PYR/PYL	F:CTGTTCATTTCGGGTTGGT
PYR/PYL	R:TGGACCCCAATATCGTTT
<i>XantDH</i>	F:GTGTGCTAGCCATCAACGTG
<i>XantDH</i>	R:ACCGATGACGGAGACTATGC

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2013 和 Origin 8.5 对数据进行统计分析并绘图。

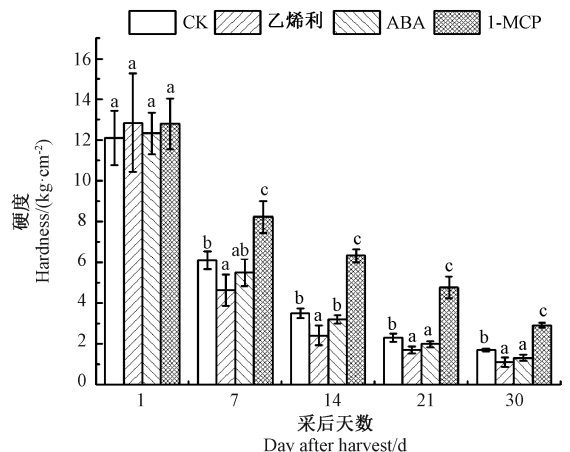
表 2 RT-qPCR 反应体系
Table 2 RT-qPCR reaction system

体系 System	体积 Volume/μL
DNA 模板 DNA template	1.0
上游引物 Forward primer (10 μmol·L ⁻¹)	0.6
下游引物 Reverse primer (10 μmol·L ⁻¹)	0.6
SYBR Green 荧光染料混合物 SYBR Green mixture	5.0
去除 RNA 酶的双蒸水 RNase-Free ddH ₂ O	2.8

2 结果与分析

2.1 不同处理对果实硬度的影响

由图 1 可知,随着后熟时间的延长,猕猴桃果实硬度呈不断下降的趋势。CK 在 DAH14 之前硬度下降明显,由 12.11 kg·cm⁻²降至 3.1 kg·cm⁻²,之后缓慢下降。与 CK 相比,ABA 和乙烯利处理均加快了果实的软化速率,且乙烯利处理较 ABA 更能促进猕猴桃果实的后熟和软化。与 ABA 和乙烯利处理组相比,1-MCP 处理可显著抑制猕猴桃果实软化速率,在 DAH30 时,1-MCP 处理果实硬度为 2.9 kg·cm⁻²,显著高于其他处理,表明 1-MCP 处理能有效延缓猕猴桃果实的后熟软化。



注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level. The same as following.

图 1 不同处理对海沃德猕猴桃硬度的影响

Fig.1 Effect of different treatment on hardness variation of Hayward kiwifruit

2.2 不同处理对猕猴桃乙烯释放量的影响

由图 2 可知,CK 在 DAH14 左右,乙烯释放开始跃升,到 DAH17 达到高峰期,此后开始下降,到 DAH45 乙烯释放接近结束。乙烯利处理组前期乙烯释放规律与 CK 类似,同样在 DAH17 进入乙烯释放高峰,但高峰期乙烯的释放量更高,同时在后期的释放量也高于 CK。ABA 处理组的乙烯释放量高于乙烯利处理组; ABA 处理组的乙烯释放在 DAH17 开始大幅跃升,在 DAH30 左右达到峰值,期间持续高峰释放,DAH30 后乙烯释放量开始降低,在 DAH45 以后释放接近结束。1-MCP 处理组在 DAH22 时乙烯释放进入高峰期,虽然进入高峰期的时间与 CK 和乙烯利处理组较为接近,但是乙烯释放量远低于其他 3 个处理,表明 1-MCP 对乙烯的合成具有明显的抑制作用。

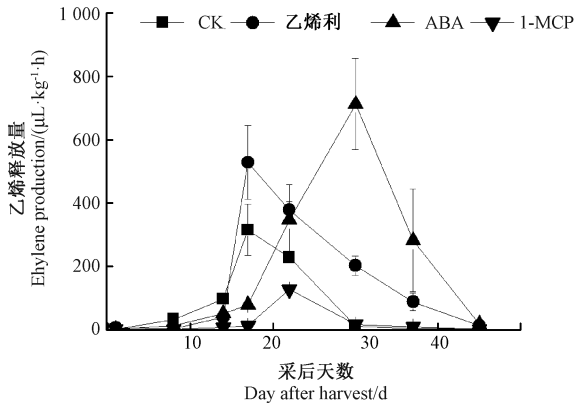


图 2 不同处理对海沃德猕猴桃乙烯释放量的影响
Fig.2 Effect of different treatment on ethylene production of Hayward kiwifruit

2.3 不同处理对猕猴桃内源 ABA 含量的影响

由图 3 可知,CK、乙烯利和外源 ABA 处理组猕猴桃内源 ABA 含量均在 DAH7 时达到峰值,此后缓慢下降并趋于稳定,外源 ABA 处理下猕猴桃内源 ABA 含量下降速率较 CK 和乙烯利处理更缓慢。1-MCP 处理组猕猴桃内源 ABA 含量在 DAH17 时达到峰值,为 $35.96 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$,且与 CK 差异显著,表明 1-MCP 处理抑制了猕猴桃内源 ABA 的合成。

2.4 不同处理对猕猴桃 *XanDH* 表达量的影响

由图 4 可知,CK 组 *XanDH* 基因表达量在 DAH17 之后变化幅度较小,趋于稳定。而乙烯利处理组的 *XanDH* 基因表达量在 DAH17 时达到最大值,随后急速降低。ABA 处理组 *XanDH* 基因表达量呈先下降后上升再下降的趋势,在 DAH17 时表达量最高。其原因可能是外源 ABA 处理会导致内源 ABA 合成受到抑

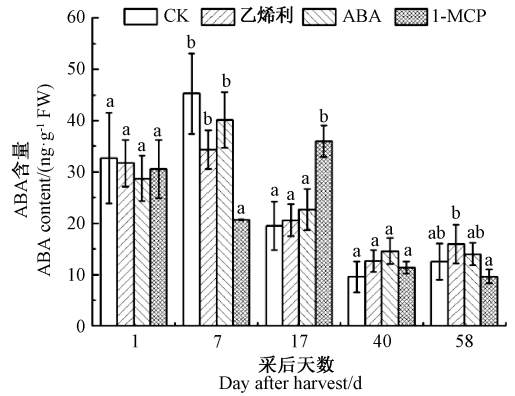


图 3 不同处理对海沃德猕猴桃内源 ABA 含量的影响
Fig.3 Effect of different treatment on endogenous ABA content Hayward kiwifruit

制,当外源 ABA 处理效应解除,此时 ABA 开始大量合成。

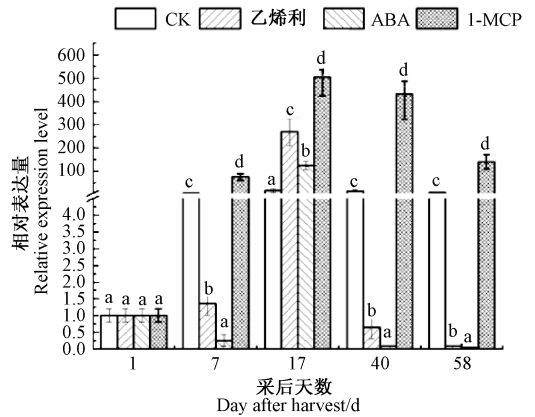


图 4 不同处理对海沃德猕猴桃 *XanDH* 基因表达量的影响

Fig.4 Effect of different treatment on expression of *XanDH* of Hayward kiwifruit

2.5 不同处理对猕猴桃 *PP2C* 表达量的影响

由图 5 可知,CK 组 *PP2C* 基因在不同采后时期表达量差异较大,在 DAH17 达到高峰后逐渐降低。乙烯利处理组 *PP2C* 基因表达量在 DAH17 后均显著低于 CK。ABA 处理组 *PP2C* 基因表达量在 DAH17 达到峰值后逐渐回落至低水平,且在后熟中后期的表达量均显著低于 CK,表明乙烯利和 ABA 处理抑制了 *PP2C* 基因的表达。从 DAH17 起 1-MCP 处理下组 *PP2C* 表达量较高,采后 7 d 起与 CK 间均差异显著。

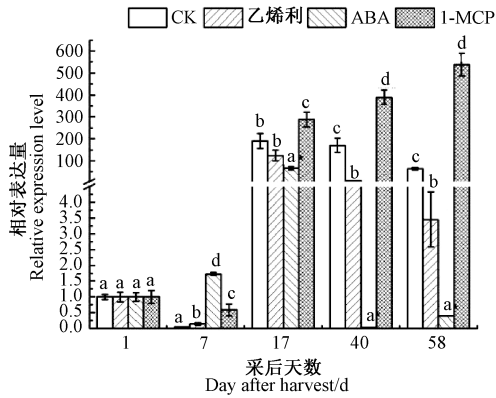


图5 不同处理对海沃德猕猴桃 *PP2C* 基因表达量的影响

Fig.5 Effect of different treatment on the expression of *PP2C* Hayward kiwifruit

2.6 不同处理对猕猴桃 *ABF* 表达量的影响

由图6可知,CK组的 ABF 表达量在采后各时期存在差异,在DAH17达到峰值后逐渐回落。乙烯利处理下 ABF 在整个采后阶段基因表达量均显著低于CK。ABA处理组的 ABF 在DAH17前表达量较高,经历峰值后急速回落,在后期表达水平较低。1-MCP处理组 ABF 基因表达量较高,且各时期与CK间均差异显著。

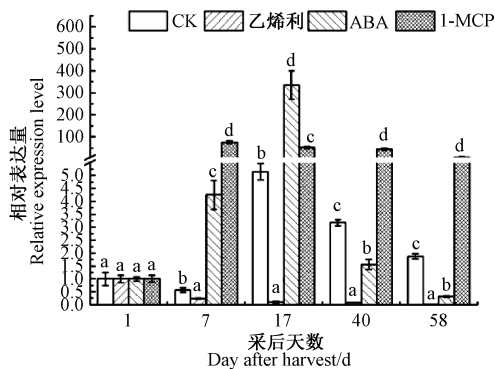


图6 不同处理对海沃德猕猴桃 *ABF* 基因表达量的影响

Fig.6 Effect of different treatment on the expression of *ABF* of hayward kiwifruit

2.7 不同处理对猕猴桃 *PYR/PYL* 表达量的影响

由图7可知,CK组 PYR/PYL 的表达量在DAH17达到高峰后迅速降低,DAH40~DAH58,表达量较小。乙烯利、ABA、1-MCP处理组, PYR/PYL 在DAH17时期均高于CK,之后乙烯利和ABA处理组 PYR/PYL 的表达量迅速降低。1-MCP处理组, PYR/PYL 表达量在

DAH17达到高峰后逐渐回落,但表达量整体仍处于较高水平与CK间差异显著。乙烯利和ABA处理组, PYR/PYL 表现出一致的表达趋势,在DAH17达到最高峰后急速回落至低水平状态。

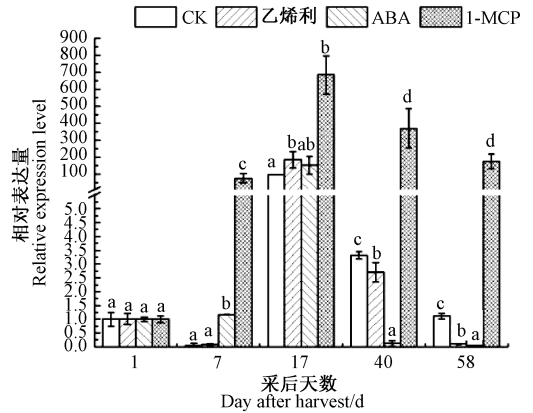


图7 不同处理对海沃德猕猴桃 *PYR/PYL* 基因表达量的影响

Fig.7 Effect of different treatment on the expression of *PYR/PYL* of Hayward kiwifruit

3 讨论

前人研究表明,ABA可以触发乙烯的生物合成,而乙烯可能作为一种“枢纽”在整个果实软化过程中发挥中央监管的作用^[26]。本研究发现,外源ABA处理与对照相比果实的软化进程加快,且ABA处理在乙烯释放量和乙烯释放时间跨度上显著高于对照组及乙烯利、1-MCP处理组,进一步验证了ABA可以诱导乙烯产生的理论。此外,本研究还发现外源ABA处理组猕猴桃后熟期内源ABA含量降低速度较其他处理更缓慢,且1-MCP处理会抑制猕猴桃内源ABA的合成并推迟ABA合成高峰的到来。但本研究对照组猕猴桃乙烯在DAH17达到高峰,而ABA处理组DAH17乙烯释放量显著低于对照,为对照的25.16%,直至DAH30乙烯释放量才达到高峰,释放量为对照组的3.53倍。这与陈金印等^[19]和陈昆松等^[20]的结果不完全一致,推测可能是由猕猴桃产地、采收时期造成采后生理差异所致,具体机理还有待进一步研究。

前人研究表明, $XanDH$ 正向调控ABA合成,在ABA生物合成过程中发挥重要作用^[27]。本研究中,乙烯利处理组 $XanDH$ 在DAH17基因表达量显著高于对照,表明外源乙烯利处理会促进 $XanDH$ 表达,进而促

进内源ABA的合成。*PP2C*对ABA信号途径起负调控作用^[28],本研究结果表明,与对照相比,乙烯利和ABA处理组中*PP2C*表达量均有不同程度降低,1-MCP处理组*PP2C*表达量上调,这与理论上*PP2C*表达量降低,ABA含量增加一致。ABA处理组*ABF*表达量在DAH17时显著高于对照,与理论上*ABF*正调控ABA含量相一致^[29]。乙烯利处理组*ABF*显著低于对照,表明外源乙烯利处理对*ABF*可能有抑制作用。

1-MCP是乙烯受体抑制剂,能通过优先与乙烯受体进行不可逆结合,从而阻断乙烯与受体的结合,进而导致乙烯诱导的与成熟相关的一系列生理生化反应被抑制,最终延迟果蔬成熟^[30]。本研究中,在ABA合成及信号通路中,*XanDH*、*PYR/PYL*基因表达量增幅最大的是1-MCP处理。Mou等^[26]也发现ABA+1-MCP处理下在ABA合成、信号传导上的一些基因的表达量高于单一ABA处理,并推测1-MCP除了阻断乙烯受体与乙烯的正常结合的功能外,还对海沃德猕猴桃内源ABA合成、信号传导有较大影响。本研究初步探究了ABA调控果实后熟机理,也为深入探究1-MCP处理影响猕猴桃后熟软化过程提供了重要的理论依据,但1-MCP是通过反馈抑制乙烯进而作用于*XanDH*、*ABF*和*PYR/PYL*,还是直接作用于*XanDH*、*ABF*和*PYR/PYL*,以及1-MCP处理导致*XanDH*、*PP2C*、*PYR/PYL*基因表达量大幅升高对果实采后生理及品质的影响均有待进一步研究。

4 结论

本研究初步探究了ABA调控果实后熟机理,结果表明外源乙烯利、ABA、1-MCP处理均会促进内源ABA相关合成基因的表达,且1-MCP处理组在ABA合成、信号传导上的一些基因的表达量均高于ABA处理组。表明1-MCP可能是通过影响猕猴桃内源ABA的代谢进而参与调控了猕猴桃后熟和衰老。本试验结果为进一步探究外源乙烯利、1-MCP和ABA对猕猴桃后熟衰老的调控作用及机理提供了新思路。

参考文献:

- [1] Reid M, Harris S. Factors affecting the storage life of kiwifruit [J]. Orchardist of New Zealand, 1977, 37: 399-404
- [2] McDonald B, Harman J. Controlled-atmosphere storage of kiwifruit. Effect on fruit firmness and storage life [J]. Scientia Horticulturae, 1982, 17(2): 113-123
- [3] Wang Y, Xu F, Feng X, Macarthur R. Modulation of Actinidia arguta fruit ripening by three ethylene biosynthesis inhibitors [J]. Food Chemistry, 2015, 17(3): 405-413
- [4] 陈昆松, 张上隆, 郑金土, Gavin S R. 乙烯与猕猴桃果实的后熟软化[J]. 浙江大学学报, 1999(3): 251-254
- [5] 陈昆松, 徐昌杰, 张上隆. 猕猴桃果实后熟软化及其调控[J]. 园艺学年评, 1996, 2: 91-105
- [6] 阮英, 生吉萍, 刘开朗, 申琳. 番茄采后成熟过程种子和果皮中脱落酸与乙烯代谢的关系[J]. 中国农业大学学报, 2005, 10(5): 15-19
- [7] 任杰, 刘永霞, 冷平, 许永新, 张素丽. 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
- [8] Zhang M, Yuan B, Leng P. The role of ABA in triggering ethylene biosynthesis and ripening of tomato fruit [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(6): 1579-1588
- [9] Endo A, Nelson K, Thoms K, Abrams S, Nambara E. Functional characterization of xanthoxin dehydrogenase in rice [J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(14): 1231-1240
- [10] Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y. Regulators of *PP2C* phosphatase activity function as abscisic acid sensors [J]. Science, 2009, 324(5930): 1064-1068
- [11] Park S, Fung P, Nishimura N, Jensen D, Fujii H. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the *PYR/PYL* family of start proteins [J]. Science, 2009, 324(5930): 1068-1071
- [12] Soon F, Ng L, Zhou X, West G, Kovach A. Molecular mimicry regulates ABA signaling by SnRK2 kinases and *PP2C* phosphatases [J]. Science, 2012, 335(6064): 85-88
- [13] Gosti F, Beaudoin N, Serizet C, Vartanian N, Giraudat J. ABI1 protein phosphatase 2C is a negative regulator of abscisic acid signaling [J]. The Plant Cell, 1999, 11(10): 1897-1910
- [14] González-García M, Rodríguez D, Nicolás C, Rodríguez P, Nicolás G. Negative regulation of abscisic acid signaling by the *Fagus sylvatica* F5PP2C1 plays a role in seed dormancy regulation and promotion of seed germination [J]. Plant Physiology, 2003, 133(1): 135-144
- [15] Chérel I, Michard E, Platet N, Mouline K, Alcon C. Physical and functional interaction of the Arabidopsis K(+) channel AKT2 and phosphatase AtPP2CA [J]. The Plant Cell, 2002, 14(5): 1133-1146
- [16] Komatsu K, Suzuki N, Kuwamura M, Nishikawa Y, Mao N. Group A *PP2Cs* evolved in land plants as key regulators of intrinsic desiccation tolerance [J]. Nature Communications, 2013, 4(7): 375-381
- [17] Zhao B, Zhang Q, Zhang Q. Research progress in the negative regulators in ABA signaling of *Arabidopsis* under stress [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(4): 855-860
- [18] 张秋博, 何之龙, 詹亚光, 梁楠松, 曹羊. 水曲柳 *SnRK2B* 基因和启动子的克隆及分析 [J]. 核农学报, 2016, 30(6): 1074-1082
- [19] 陈金印, 陈明, 甘霖, 付永琦, 刘康. 乙烯利和 ABA 处理对‘金魁’猕猴桃果实后熟软化的生理效应 [J]. 江西农业大学学报, 2005, 27(1): 6-11
- [20] 陈昆松, 李方, 张上隆, Gavin S. ABA 和 IAA 对猕猴桃果实成熟进程的调控 [J]. 园艺学报, 1999, 26(2): 81-86
- [21] 陈金印. 美味猕猴桃‘金魁’果实后熟软化机理及其调控技术研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2004
- [22] 高俊凤. 植物生理学试验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006
- [23] 赵家显, 潘远智, 李永红. 外源 ABA 对叶子花开花及内源 ABA 合成关键酶的影响 [J]. 园艺学报, 2014, 41(10): 2085-2093

- [24] Jaakola L, Pirttilä A, Halonen M, Hohtola A. Isolation of high quality RNA from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit [J]. *Molecular Biotechnology*, 2001, 19(2):201–203
- [25] Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402–408
- [26] Mou W, Li D, Bu J, Jiang Y, Khan Z, Luo Z, Mao L, Ying T. Comprehensive analysis of ABA effects on ethylene biosynthesis and signaling during tomato fruit ripening [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e154072
- [27] González-Guzmán M, Apostolova N, Bellés J, Barrero J, Piqueras P. The short-chain alcohol dehydrogenase ABA2 catalyzes the conversion of xanthoxin to abscisic aldehyde [J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(8):1833–1846
- [28] Zhang F, Fu X, Lv Z, Shen Q, Yan T. Type 2C phosphatase 1 of *Artemisia annua* L. is a negative regulator of ABA signaling [J]. *Biomed Research International*, 2014, 2014:521794
- [29] Zhao B Y, Hu Y F, Li J J, Yao X, Liu K D. BnaABF2, a bZIP transcription factor from rapeseed (*Brassica napus* L.), enhances drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Botanical Studies*, 2016, 57(1):12
- [30] Lim S, Han S, Kim J, Lee H, Lee J. Inhibition of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta*) ripening by 1-methylcyclopropene during cold storage and anticancer properties of the fruit extract [J]. *Food Chemistry*, 2016, 190:150–157

Effects of Different Treatment on the Expression of Genes Involved in Endogenous Abscisic Acid in Hayward Kiwifruit

DU Yinglin¹ XU Yafen¹ GAO Guitian^{1,2,*} CAO Fan¹ LI Chaozheng¹ ZHANG Xin¹

¹ School of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710119;

² Academy of Actinidia in Shaanxi Province Engineering Technology Research Center, Xi'an, Shaanxi 710404)

Abstract: In order to investigate the effect of exogenous ethephon, ABA and 1-MCP on anabolism of endogenous ABA in Hayward kiwifruit and to reveal regulates mechanism of ABA on fruit ripening, exogenous ethephon, ABA and 1-MCP were applied on Hayward kiwifruits. HPLC and RT-qPCR were used to analyze the content change of ABA and the expression of genes relating to ABAs biosynthesis which including *XanDH*, *PYR/PYL*, *PP2C* and *ABF* in kiwifruit which stored at 20°C. This research provided a deeper insight into the ripening and aging mechanism regulated by ABA in kiwifruit. The results suggested that the samples treated with ethephon presented significantly lower expression of *PP2C* and *ABF* than the control group ($P < 0.01$) from 17 days after harvest (DAH17) to DAH58, while the expression of *XanDH* and *PYR/PYL* in experimental group were significantly higher than those in control group on DAH17 and then decreased rapidly. In the group of ABA treatment, the expression of *XanDH* decreased first, then increased to the highest level on DAH17, after then the expression gradually decreased; the expression of *PP2C* and *PYR/PYL* reached the highest level on DAH17 and then decreased to a low level, which was significantly different from the control group; *ABF* had a higher expression level in the early period after harvest, while the expression decreased rapidly after the peak value, subsequently retained to a comparatively low expression in the late ripening phase. As for the samples exposed to 1-MCP, the expression of *XanDH* was significantly higher than that in control group throughout the experiment and a comparatively moderate decreasing trend was observed after the maximum on DAH17. Furthermore, compared with the control group, a steady increasing expression for *PP2C* and declining expression for *ABF* could be observed. Moreover, when the samples were treated with 1-MCP, *PYR/PYL* exhibited a significant higher expression than the untreated ones, even though *PYR/PYL* was down regulated after reaching the peak value on DAH17. As mentioned above, exogenous ethephon, 1-MCP and ABA could greatly influence biosynthesis of ABA and signal transduction in Hayward kiwifruit, which provide a novel access to clarifying the regulatory mechanism of the ripening and aging of Hayward kiwifruit by utilizing these three exogenous application.

Keywords: ethephon, 1-MCP, ABA, kiwifruit, gene expression