植物学通报 2004, **21** (1): 79~83
Chinese Bulletin of Botany

PG 与番茄果实成熟的关系①

李曜东　魏玉凝　顾淑荣

（中国科学院植物研究所　北京　100093）

摘要　系统比较了转多聚半乳糖醛酸酶(PG)反义基因和对照番茄果实成熟过程中绿熟、转色、粉顶、粉红、全红5个时期的PG活性和与其相关的生理、生化组分的动态变化。实验表明，转基因果与对照果相比，PG活性始终处于较低水平，PG活性强烈被抑制是在全红期；果实的硬度、贮藏寿命指数都高于对照果；番茄红素合成积累进程被延缓；可溶性果胶含量、电解质外渗百分率均低于对照果。外源乙烯刺激引起对照果PG活性剧增，而转基因果表现钝化。讨论了PG活性与果实成熟、耐贮性及软化的关系，及对外源乙烯刺激的敏感性。首次明确提出PG活性在对照果中极大地表达，在转基因果中强烈被抑制是在全红期 ,而不是在整个成熟期；PG活性在果实软化中起直接和重要作用；PG活性的高低与番茄红素的合成与积累有关。

关键词　多聚半乳糖醛酸酶活性，反义PG基因，成熟，番茄，贮藏寿命指数

The Relation between PG and Ripening of Tomato Fruit

LI Yao-Dong　WEI Yu-Ning　GU Shu-Rong

(*Institute of Botany , the Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093)

Abstract　The polygalacturonase activity and some physiological changes of transgenic (with antisense PG gene) and control tomato fruits were systematically compared at green-mature, turning, pink-top, pink and red stages in ripening process. The results showed that PG activity of transgenic tomato fruits was lower than that in control fruits in ripening process. The PG activity of transgenic fruits were almost inhibited at red stage. Transgenic fruits are better than control fruits in firmness and storability. Synthesis and accumulation of lycopene of transgenic fruits are postponed, soluble pectin content and electric conductivity were all lower than those in control fruits. Stimuli of exo-ethylene caused sharp increase of PG activity in control fruits, but not in transgenic fruits. The interrelation of PG activity with softness, storability and susceptivity to stimulus from exo-ethylene was discussed. We proposed for the first time, the PG activity sharp increasing in control fruits and almost inhibiting in transgenic fruits were only at red stage, not at whole ripening stage, and the PG activity plays an important and direct role in fruit ripening softness.

Key words　PG activity, Antisense PG gene, Maturity, Tomato, Accumulative storage index

果实成熟是果实生长发育的一个阶段，是各种相关基因调控和外在条件共同作用的结果。目前认为多聚半乳糖醛酸酶（PG,E,C,3,2,1,15）是在此期表达活性(Oregory and Donald, 1982;

① 国家自然科学基金资助项目（39770532）。
作者简介：李曜东，1948 年出生，副研究员， 主要从事植物生理生化研究。
收稿日期：2002-06-03　接受日期：2003-09-15　责任编辑：白羽红

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t22-079

Jone *et al* ,1989) 的一类酶, 具组织的特异性(Denise and Avtar, 1989; Julle *et al*,1993),其调控主要在转录水平(Bennlet and Della, 1987; Schuch *et al*, 1989) 。魏玉凝等(1996)报道了转PG反义基因番茄果中反义 PG RNA 表达，果实 PGmRNA 含量、PG 活性、内源乙烯释放量、呼吸强度都比对照果减少，果实硬度、耐贮性及抗病菌感染能力比对照果增强等。在此基础上，从生理、生化等方面分析论述了转基因和对照番茄果从绿熟到全红期PG的动态变化与果实成熟和软化的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

番茄‘丽春’品种（*Lycopesion esculentum* cv. *Lichun*）种子购自中国农业科学院蔬菜研究所,‘丽春’转反义 PG 基因纯合子种子由本实验室转化获得（魏玉凝等，1996）。

1.2 方法

将番茄果实成熟期划分为绿熟、转色、粉顶、粉红、全红 5 个时期，取各期转基因和对照果赤道部位果皮组织, 测定 PG 活性（Kenneth,1982）、果胶物质含量（耶尔马科夫著，1959）、电解质外渗百分率（用 DDS- Ⅱ型电导仪）和果实硬度（用 TC-Z 型果实硬度计）。将转色期果分成经和未经乙烯处理（乙烯浓度 =1.0 mg 乙烯利 /L 浸泡 30 min）两组，测当日和存放 7 d 的 PG 活性，观察果实成熟颜色变化。每个样品为 5 个果实的平均值。计算贮藏不同天数的好果率和贮藏寿命指数用 Lobo 等的方法，贮藏寿命指数（ASI）= Σ（保留果实的百分率×贮藏天数）/100，放网孔塑料筐内, 暗光，室温 30 ± 2℃存放，每次每组样品取 50 个转色至粉顶期的果贮存。以上所有测定均为两年实验的平均值。

2 结 果

2.1 转基因果与对照果各成熟期 PG 活性的比较

从绿熟到全红期的 PG 活性，转基因果由 25 增至 42，增值 17。对照果从 29 增至 767，增值 738（单位均为半乳糖醛酸 mmol/kg FW·h）。转基因果与对照果相比，PG 活性始终处在低水平，全红期对照果 PG 活性剧增，与转基因果呈现极大的差异（图 1）。

2.2 两种果实耐贮性及硬度比较

取转色至粉顶期转基因果和对照果,在相同条件下贮藏。相同天数的好果率和贮藏寿命指数转基因果均高于对照果，贮藏中后期（30 d 后）尤为显著（表 1）。各期的果实硬度转基因果均高于同期对照果(表 2) 。PG 活性与果实硬度有密切关系。

2.3 两种果实果皮组织果胶成分及电解质外渗百分率

转基因果的绿熟期到全红期可溶性果胶含量,及其与总果胶含量的比率均低于对照果,全红期几乎是对照的一半。可溶性果胶与总果胶含量的比率，绿熟期对照果比转基因果高 13%，全红期对照果比转基因果高 22%(表 3)。

各成熟期转基因果果皮组织电解质外渗百分率均低于对照果。绿熟期转基因果比对照果低 20%，全红期比对照果低 24.7%（表 4）。

2.4 PG 活性对果色和外源乙烯对果实 PG 活性的影响

采摘转色期对照果，当日的 PG 活性为 67,存放 7 d 后增至 367,增加 300（单位均为释放的

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t22-079

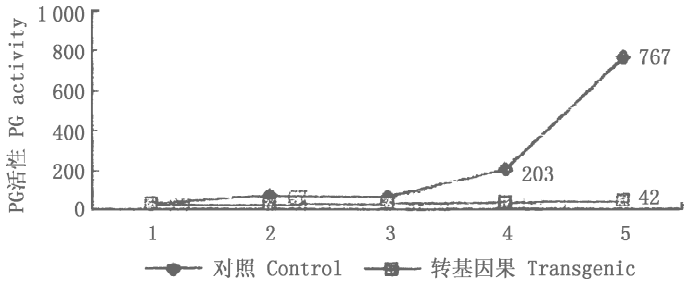


图 1　转基因果和对照果各成熟期的 PG 活性（PG 活性单位：释放的半乳糖醛酸 mmol/kg FW·h）
1. 绿熟期，2. 转色期, 3. 粉顶期, 4. 粉红期, 5. 全红期

Fig.1. PG activity of transgenic and control fruit at different ripening stage (unit of PG activity: released galacturonic acid mmol/kg FW·h)
1. Green-mature, 2. Turning, 3. Pink-top, 4. Pink, 5. Red stage

半乳糖醛酸 mmol/kg FW·h，下同),果色由转色为全红。转基因果当日的 PG 活性为 24，存放 7 d 后增至 33，增加 9，果色由转色为粉红。用外源乙烯处理的对照果，7 d 后 PG 活性增至 889 ,增值 822。用外源乙烯处理的转色期转基因果 7 d 后 PG 活性增至 3 7，增值 13(表 5)。即对照果 PG 对外源乙烯刺激敏感，转基因果 PG 对外源乙烯刺激钝化。

3　讨　论

3.1　转基因果和对照果各成熟期 PG 活性

转基因果与对照果相比,PG活性始终处于缓慢增加的低水平。从绿熟期到全红期转基因果PG活性增加17,而对照果增加738。转基因果各期的PG活性依次为对照果的86%、36%、49%、16%和 5%。绿熟期两果的PG活性相差不大,转色期和粉顶期两果的PG活性相差一倍多,到全红期转基因果PG活性仅为对照果的5%, 表现出与对照果极大的差异,即转基因果PG活性极大被抑

表 1　转基因果和对照果不同贮藏天数好果率与贮藏寿命指数

Table 1　Percentage of remaining fruits and ASI in transgenic and control fruits at different days of storage

贮藏天数 Days of storage		7	15	20	30	35	45	50
好果率	A	96 ± 0.8	91 ± 0.8	61 ± 0.8	23 ± 2.0	19 ± 2.0	0.0	0.0
Percentage	B	100 ± 0.0	100 ± 0.0	91 ± 2.0	91 ± 2.0	87 ± 2.0	81 ± 2.0	65 ± 2.0
of remaining								
贮藏寿命指数	A	6.7 ± 1.0	20 ± 1.0	32 ± 1.0	39 ± 2.0	46 ± 2.0	46 ± 2.0	46 ± 2.0
ASI	B	7.0 ± 0.0	22 ± 0.0	40 ± 2.0	68 ± 2.0	98 ± 2.0	135 ± 2.0	167 ± 2.0

A: 对照果, B: 转基因果。A: Control, B: Transgenic fruit.

表2　转基因果和对照果不同成熟期果实硬度 (kg/cm^2)

Table 2　Firmness of fruits at different ripening stages (kg/cm^2)

	转色期 Turning	粉顶期 Pink-top	粉红期 Pink	全红期 Red
转基因果 Transgenic	5.7	3.73	1.82	1.08
对照果 Control	3.8	2.0	0.7	0.58

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t22-079

表3 转基因果和对照果不同成熟期果胶组份含量 (单位mg果胶质/g FW)

Table 3 Pectin contents of transgenic and control fruits at different ripening stages (mg pectin/g FW)

		绿熟期 Green-mature	转色期 Turning	粉顶期 Pink-top	粉红期 Pink	全红期 Red
可溶性果胶 Soluble pectin	A	6.5 ± 0.9	7.7 ± 1.0	6.7 ± 1.0	8.7 ± 0.6	12.3 ± 1.0
	B	4.7 ± 0.3	7.2 ± 1.0	6.3 ± 0.5	6.1 ± 0.5	6.6 ± 0.2
原果胶含量 Insoluble pectin	A	14.0 ± 1.0	15.6 ± 1.0	10.6 ± 0.8	9.2 ± 0.8	10.8 ± 0.8
	B	19.2 ± 0.5	21.0 ± 0.5	24.1 ± 1.0	16.6 ± 1.0	14.5 ± 1.0
总果胶含量 Total pectin	A	20.5 ± 1.0	23.3 ± 1.0	17.3 ± 0.5	17.9 ± 0.6	23.1 ± 1.0
	B	24.0 ± 0.2	28.2 ± 0.5	30.4 ± 0.5	27.7 ± 0.3	21.3 ± 1.0
可溶性果胶/总果胶(%) Solube pectin/total pectin	A	32.0 ± 1.0	33.0 ± 1.0	39.0 ± 0.8	49.0 ± 0.8	53.0 ± 1.0
	B	19.0 ± 0.5	25.0 ± 0.5	21.0 ± 0.8	26.0 ± 0.6	31.0 ± 0.8

A: 对照果, B: 转基因果。 A: Control, B: Transgenic fruit.

表4 转基因果和对照果不同成熟期果皮组织的电解质外渗百分率（%）

Table 4 The electric conductivity of two species peel tissues at different ripening stages (%)

	绿熟期 Green-mature	转色期 Turning	粉顶期 Pink-top	粉红期 Pink	全红期 Red
对照果 Control	71.0 ± 0.2	73.0 ± 1.0	76.0 ± 1.0	77.0 ± 0.3	89.0 ± 0.1
转基因果 Transgenic fruit	51.0 ± 0.8	59.0 ± 1.0	62.0 ± 1.0	67.0 ± 1.0	64.3 ± 1.0

表5 转色期外源乙烯处理的转基因果和对照果的PG活性和果色的比较

Table 5 Comparison of PG activity and fruit color of transgenic and control fruits treated with ethylene at turning stage

	未经乙烯处理 Not treated with exo-ethylene		经乙烯处理 Treated with exo-ethylene
	采摘当日 Picking-day	7 d后 After 7 days	7 d后 After 7 days
对照果PG活性 PG activity of control fruit	67	367	889
对照果果色 Color of control fruit	转色	全红	
转基因果PG活性 PG activity of transgenic fruit	24	33	37
转基因果果色 Color of transgenic fruit	转色	粉红	

PG活性单位:释放半乳糖醛酸mmol/kg FW·h。Unit of PG activity: Released galacturonic acid mmol/kg FW·h

制是在全红期,而不是整个成熟期。

3.2 PG活性和果实成熟的关系

转基因果的PG活性、耐贮性和果色变化的实验结果表明,果实的成熟可在低水平PG活性下开始并进行,延缓了果实番茄红素的合成积累,延长了果实的成熟期和贮藏寿命,并提高了贮藏的好果率,中、后期尤为显著。PG活性高，结果则反之。本结果与Smith等（1988）的报道不同，他认为转反义PG基因番茄果实PG活性与番茄红素无影响，而我们的结果是有影响。

3.3 PG活性与果实软化的关系

绿熟到全红期转基因果果皮组织的可溶性果胶含量，及其与总果胶含量的比率，电解质

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t22-079

外渗百分率均低于对照果，结合 PG 和果实硬度的实验结果可得出，PG 活性低有利于维持果实的硬度，PG 活性高有利于促进果实软化，证实了 PG 活性与果实硬度直接相关。我们对其细胞学的研究（李曜东等，2002）也得到了证明：转基因果果皮外层细胞比对照果增厚，细胞质凝聚和细胞解体延缓，低 PG 活性有利于保持细胞组织的结构。否则反之。

3.4 外源乙烯对转基因和对照果 PG 活性的影响

对照果经乙烯处理后 7 d，PG 活性增加 12.3 倍，其对外源乙烯刺激敏感。而转基因果经乙烯处理后 7 d，PG 活性只增加 0.5 倍，表现出对外源乙烯刺激钝化。估计外源乙烯对番茄果实 PG 活性的影响与其 PGmRNA 的含量有关。

我们认为，转基因果和对照果在各种条件均一致的情况下所表现的差异，无疑是由转反义 PG 基因所致。PG 活性在果实成熟软化中起重要作用。利用转反义 PG 基因和对照果，对果实成熟的其他相关因子的生理生化，特别是分子水平的研究，有利于对影响果实成熟的诸因素的作用有新的了解，并对科研生产起指导作用。

参 考 文 献

李曜东，顾淑荣，魏玉凝，周馥，赵敬芳，2002. 转反义 PG 基因番茄果实细胞结构变化的研究. 植物学通报，**19**：1~5

耶尔马科夫著(吴相钰译)，1959. 植物生物化学研究方法. 北京: 科学出版社, 194~197

魏玉凝，李曜东，马庆虎，宋艳茹,1996.表达多聚半乳糖醛酸酶反义的转基因番茄分析. 植物学报,**38**：245~248

Denise M T, Avtar K H,1989. Immunocytolocalization of polygalacturonase in ripening tomato fruit. *Plant Physiol*, **90**:17~20

Jonse R B, Wardley T M,Delling M J, 1989. Molecular changes involved in the ripening of tomato fruit. *J Plant Physiol*, **134**:284~289

Julle M,Vicky P, Deikman J,1993. Positive and negation reulatory regions control the spatial distribution of polygalacturonase transcription in tomato fruit pericarp. *Plant Cell*, **5**:1049~1062

Kenneth C G,1982. A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyancacetamide. *Hort Science*, **17**:933~934

Lobo M, Bassett M J, Hannah L C,1984. Inheritance and characterization of the fruit ripening mutation in ‘Alcobaca’ tomato. *J Amer Soc Hort Sci*, **109**:741~745

Oregory A T, Donald G,1982. Synthesis of polygalacturonase during tomato fruit ripening. *Planta*, **155**:64~67

Smith C J S, Watson C F, Ray J, Bird C R, Morris P C, Schuch W, Drierson D, 1988. Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expresion in transgenic tomatoes. *Nature*, **334**: 724~726

Theogis A, Zarembinski T I, Oeller P W,Liang X, Abel S,1992. Modification of fruit ripening by suppressing gene expression.*Plant physiol*, **100**:549~551

Theologis A, 1992. One rotten apple spoils the whole bushel: the role of ethylene in fruit ripening. *Cell*, **70**: 181~184

Theologis A, 1992. Ripening by suppressing gene expression. *Plant physiol*, **100**: 549~551

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t22-079