

番茄成熟突变体(*rin*, *nor*, *alc*)及其 F₁ 的贮藏生理特性研究^①

陆春贵 徐鹤林

(江苏省农科院蔬菜所, 210014)

赵有为

(江苏农学院园艺系, 扬州 225001)

摘 要 本研究对番茄成熟突变体 *rin*、*nor*、*alc* 材料与正常成熟番茄品种及其杂种一代果实, 在绿熟期采收后果实的呼吸强度、乙烯释放量及多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性进行了测定和分析。结果表明: 具 *rin*、*nor*、*alc* 基因的番茄果实无呼吸和乙烯跃变期, 其硬度降低慢, 果实中 PG 活性较低, 它们的贮藏指数是正常成熟番茄的 3 倍, 一般可贮藏 2~3 个月。其与正常番茄亲本品种交配的 F₁ 杂种果实 (*rin* / +, *nor* / +, *alc* / +) 均有一小的呼吸、乙烯高峰出现, 但跃变期比正常番茄推迟 5~7 天, 达跃变期时, 果实释放的 CO₂ 和乙烯量是正常番茄的 40%~65%, PG 活性和硬度变化介于双亲之间, 果色与正常成熟番茄相近, 果实的耐贮藏性较正常番茄有所提高。

关键词 番茄; 成熟+突变体; 硬度; 乙烯 / PG (多聚半乳糖醛酸酶)

中图法分类号 S51.1

PHYSIOLOGICAL CHARACTERS FOR STORAGE PROPERTY OF THE '*alc*', '*nor*', '*rin*' RIPENING MUTANTS AND ITS F₁ IN TOMATO

LU Chungui XU Heling

(Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences)

ZAO Youwei

(Department of Horticulture Jiangsu Agricultural College, Yangzhou 225001)

ABSTRACT Changes in respiration, ethylene production, PG activity and firmness during ripening period were monitored in fruits of the '*alcobaca*', '*nor*', '*rin*' mutants and those of normal tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In fruits of mutants (*alc*、*nor*、*rin*), no respiratory or ethylene climacteric was observed, Firmness declined very slowly with only trace levels of Polygalacturonase (PG) in mature fruits. They showed a 400% increase in storability compared to normal cult. 524 with a mean storage life of 90~120 days.

Ripening of fruits from heterozygous (*nor* / +), (*alc* / +), (*rin* / +) F₁ plants was delayed. The respiratory climacteric was partially suppressed and delayed (5~7 days), peak ethylene production was 45%~65% of that in normal fruits. Fruits harvested at the mature green may reached red colour.

KEY WORDS Tomatoes; Maturation+mutants; Hardness; Ethylene / Polygalacturonase

①国家“八五”攻关课题资助项目。

收稿日期: 1993-04-05.

0 前言

番茄果实成熟后,很快变软,难以保鲜和贮运。据 Ceponis 等人报道:每年番茄采后损耗占总产量的 20%~30%^[1]。采收绿熟果实进行贮运,虽可提高一定的耐贮运性,但果实风味较差,着色不匀,品质下降^[2]。长期以来,人们一直盼望能培育出一种既能贮藏较长时间,又可保持其优良品质的番茄新品种。

近年来,番茄遗传育种专家,先后发现了多种番茄成熟突变体,如 *Nr*(never-ripe), *rin*(ripening inhibitor)及 *nor*(non-ripening), 其共同特性:只产生极少茄红素,果实硬度大,不产生或产生微量果实软化酶——多聚半乳糖醛酸酶(PG),成熟过程无呼吸跃变,乙烯含量很低,果实可贮藏 2~3 个月,但这一特性常与果实品质下降相关联^[3];而新近发现的 *alc*(Alcobaca),突变体,它除具有较强的耐贮性外,其品质与正常番茄相近,最终果实转红,在育种上利用价值较高。

本试验以具 *nor*、*alc*、*rin* 基因材料为亲本与普通番茄品种杂交,研究番茄成熟突变体及其 F₁ 代贮藏特性的遗传变化,为耐贮性育种提供理论和方法。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

选用从美国引进的 3 种成熟突变体基因型的耐贮材料和我国普通番茄品种(正常成熟)及两者间杂种组合,主要是:

rin(IS08 98-53) *rin* × CK₁, (*rin* / +); *nor*(LA1793 89-32) *nor* × CK₁, (*nor* / +); *alc*(LA2833 89-59) 薯叶型 *alc* × CK₁, (*alc* / +); CK₁ (524 大红) CK₂ (苏抗五号 F₁) 等为试材,同时种植,随机排列,重复 3 次,栽培方法同一般生产大田。

1.2 测定项目和方法

1.2.1 果实呼吸强度测定 对测定材料在田间定株,花期挂牌,在绿熟期采下成熟度相同的果实,每个样品 1kg (约 6 个果)。贮于 20℃ 下 30 天,按宋钧、于梁介绍的方法^[4],用红外线 CO₂ 气体分析仪(QGD-7 型 CO₂ 分析仪,北分厂)测定果实的呼吸强度变化,每日测一次,1991 年春、秋两次测定,其结果很相近。

1.2.2 果实乙烯含量测定 按王坤范密闭法进行^[5]。从乙烯气瓶中取 1ml 样品气体注入气相色谱仪中(G、C-9A 型日本产)载气 N₂、流速 40ml/min,空气 400ml/min, H₂ 45ml/min,柱温 90℃ 下,氢火焰离子化探测器检测。每样品设 3 个重复,每重复取 2 次气体,取平均值。在贮藏期内,前 20 天每天测一次,后 10 天隔天测一次。

1.2.3 PG 活性测定 在南京农业大学生化实验室进行。在果实 4 个不同成熟期采果测定,(G) 绿熟期;(B) 破白期:开始成熟,果实表面发白并开始转色,转色面积不超过 10%;(T) 转色期:果实表面 10%~60% 转色为淡黄或红色;(R) 成熟期:果实表面 60% 以上转色为全红或黄。参照 Zainon (1982)^[6]、周培根^[7] (1991) 方法。(I) 提取:将待测样品在 -30℃ 下速冻(每个品种取 6 个果)取 5.0g 果皮组织,快速研磨粉碎,加入 1.0mol/L NaCl (内含 4mol/L MPB-巯基乙醇) 20ml,搅均;调整 pH 至 6.0;匀浆液在 4℃ 下提取 2h,离心 10000 × g, 20min,上清液在 0℃ 冰浴中用 75% (NH₄)₂SO₄ 沉淀,静置 1h (4℃);离心 (12000 × g, 20min) 沉淀在 10ml 0.15mol/L、pH 为 6.0 的 NaAc · HAC 中悬浮,并透析,得到 PG 粗酶液。(II) PG 活性分析测定:取 0.1ml 酶提取液加入 0.5ml 1.0% 底物多聚半乳糖醛酸(PGA) (Sigma 产品),在 37℃ 下保温

30min, 对照用热失活的酶液进行。反应结束后, 沸水浴中加热 30min 终止反应, 用 Nelson 方法^[8]测定还原基团的含量。

1.2.4 果实硬度测定 测硬度与测 PG 采用同一样品, 沿着果赤道线, 随机对着心室腔二点, 用硬度计(日产 Cal. No.166 型)测定, 重复 4 次, 每样品测 12 个果实取平均值。

1.2.5 贮藏试验 果实在绿熟期采下, 每材料选无病、整齐一致的果 20 个, 用 0.3% 次氯酸钠消毒果实, 再放入消毒过的塑料箱内(20 个果为一箱), 重复 4 次, 贮藏于 16℃ 室内, 隔 5 天检查一次, 去除烂果, 统计好果率, 计算贮藏指数^[9]:

$$\text{贮藏指数(ASI)} = \sum \frac{\text{好果率(\%)} \times \text{贮藏天数}}{100}$$

ASI 越大, 表示耐贮性越强。

2 结果与分析

2.1 番茄果实采后呼吸强度和乙烯含量变化

2.1.1 呼吸强度变化 从图 1 中看出, 正常成熟的品种果实采收后, 有呼吸跃变现象, 呼吸峰在采后第 7 或第 8 天出现, 而成熟突变体材料, 在果实成熟过程中均无呼吸跃变。*alc* 呼吸强度介于正常成熟品种与 *rin*、*nor* 之间。

成熟突变体的材料与正常成熟品种杂交后, 呼吸作用发生较大变化, *rin* × CK₁、*nor* × CK₁、*alc* × CK₁ 的各 F₁ 虽均有呼吸跃变峰, 但比正常成熟品种跃变峰推迟 5~7 天出现, 且峰值仅是正常成熟品种的 40%~65%。

2.1.2 乙烯释放量变化 1990~1991 年两次测定了乙烯释放量(见图 2), 变化规律结果一致。正常成熟番茄 CK₁, 在贮后第 7 天出现高峰, 峰值为 13.5 μl / kg · h。 *nor*、*rin* 均不出现跃变峰, 且在成熟过程中其含量一直很低; *alc* 介于正常成熟品种和 *rin* 之间, 为“半跃变型”, 其在贮藏后第 10 天出现一次小高峰, 峰值仅是正常成熟番茄品种的 32%。

成熟突变体材料与正常成熟 CK₁ 杂交后, 其各 F₁ 的乙烯释放量变化与双亲存在明显差异, 且均介于双亲之间, 但也出现跃变峰, 比正常成熟的苏杭 5 号推迟 5~7 天出现。乙烯生成量与呼吸强度上升时间进程一致, 而峰值为正常成熟品种的 45%~65%; 其中 *alc* × CK₁ 的高峰比 *rin* × CK₁、*nor* × CK₁ 提早 1~3 天出现。

2.2 果实硬度的变化(图 3、4)

正常成熟的番茄品种在开花后 55 天左右(果实绿熟期)其果实硬度为 6.7 kg / cm², 但随着果实的成熟, 硬度逐渐下降, 到果实转红时(开花后 60~68 天), 硬度迅速下降, 果实也很快变软。而几种突变体材料的果实在发育过程中, 硬度值较高, 变化较少, 尤其是 *rin* 和 *nor* 的番茄果实在绿熟期前的幼果期果实的硬度值一般较大, 与绿熟期相近(数据未列出)。

各种基因型的果实软化特性受果实内多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性所控制^[13]。PG 在果实软化和成熟过程中起着重要作用^[13, 14]。

2.3 PG 活性变化

正常成熟番茄品种果实, 在绿熟期采下时, PG 的活性几乎为零, 但随着果实发育, PG 活性直线上升, 当果实全红时达 2518.8 PGA nmol / gFW min, *rin* 的 PG 活性从采下到贮藏后 1~2 个月一直很低, 前期甚至测不出。*nor* 较 *rin* 略高, *alc* 居正常品种和 *nor* 之间, 到果实转红时 PG 活性是正常番茄转红时的 36%。

杂合体 F₁ 表现有所不同, *alc*、*rin*、*nor* 与 CK₁ 杂交后 F₁ 的 PG 活性均比突变体显著提高, 至成熟期, PG 活性分别是突变体亲本的 2~7 倍, 但均比正常成熟的亲本品种为低。

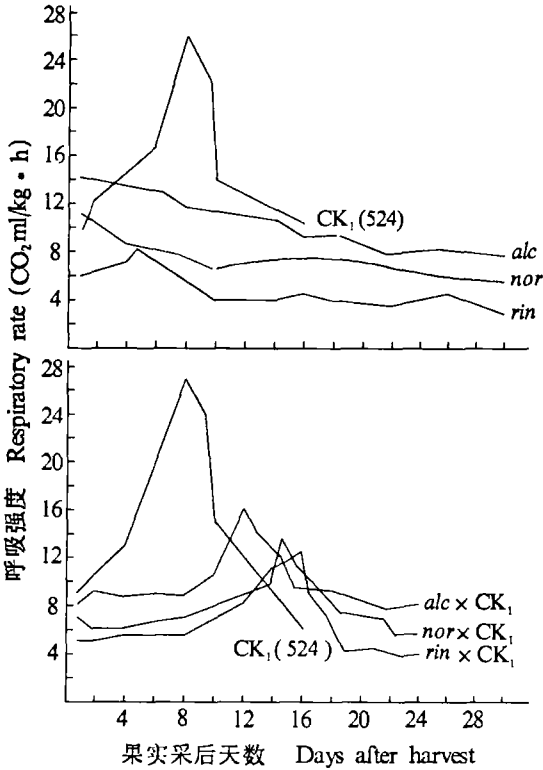


图1 不同成熟突变体基因型及其与正常成熟品种的杂种一代果实成熟过程中的呼吸强度比较(绿熟期采下贮于20℃)

Fig.1 Respiration pattern of tomato fruits of normal (524), *rin*, *alc*, *nor* and *nor* × normal, *rin* × normal. Fruits were harvested at mature green

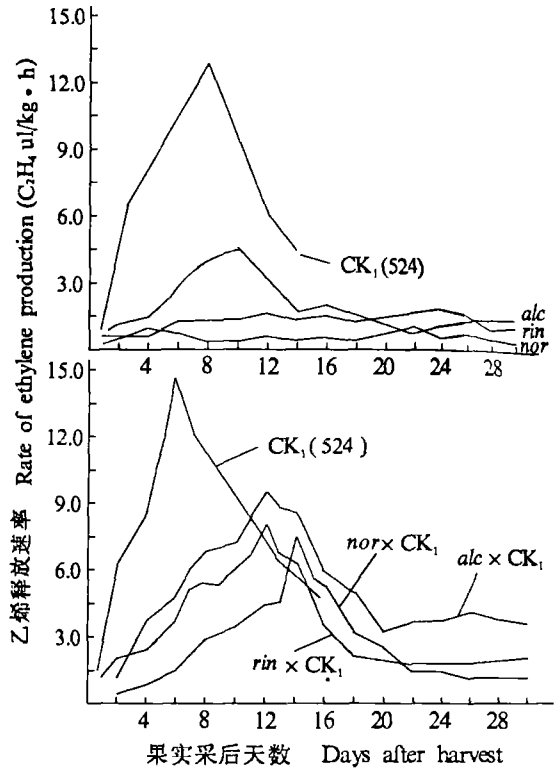


图2 不同成熟突变体基因型及其与正常成熟基因型的杂种一代果实成熟过程中乙烯释放量比较

Fig.2 Ethylene production of tomato fruits of normal (524), *rin*, *alc*, *nor* and *nor* × normal, *rin* × normal, *alc* × normal

从图3、4还可看出,果实硬度和PG活性呈明显的负相关,即PG含量越高,果实硬度越小,果实软化程度越高。纯合的成熟突变体 *rin*、*nor*、*alc* 在绿熟期采收后最初一周内硬度较高,达 $7.4\text{kg}/\text{cm}^2$ 。且变化很小;而此时果实内PG含量相当低,几乎测不出。但随着果实发育,硬度略有下降,而PG活性则略有提高,变化程度均很小。正常成熟的品种,在采后开始的2天内未能检测出PG,随着硬度的继续下降,PG活性逐渐上升,并分为两个阶段。第一阶段(绿熟期-转色期)PG上升较平稳,活性仅增加2倍;第二阶段(转色期-成熟期)其活性急剧上升,在此期间PG活性提高了12.5倍,最终PG活性提高了近原来的25倍。其硬度下降与PG活性变化非常吻合。从试验结果可以看出:PG活性是引起果实软化的主要因素。

2.4 果实耐贮性

rin 突变体果实贮藏指数最高,其次是 *nor*、*alc*。正常成熟品种524大红,一般仅能贮藏一周左右,而 *rin*、*nor* 和 *alc* 突变体可贮藏近3个多月。耐贮基因突变体与正常品种杂交后其贮藏性显著下降,但仍比正常成熟品种的贮期延长10~15天, *alc* 与其它耐贮品种杂交后,在其 F_1 中以 *alc* × *nor* 贮期最长,可贮藏40天左右。

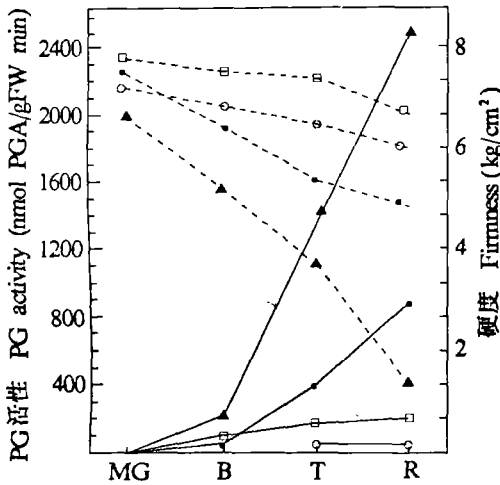


图 3 成熟突变体基因型番茄果实硬度与 PG 活性变化

Fig. 3 Polygalacturonase (PG) activity and Firmness of normal, *rin*, *nor*, *alc* fruits at different stages of ripening

MG 绿熟期 Mature-green; B 发白期 Breaker stage; T 转色期 Turn colour; R 成熟期 Ripe stage;硬度 Firmness; ——多聚半乳糖醛酸酶 PG; ▲ CK₁(524 大红); ● *alc*; ○ *rin*; □ *nor*

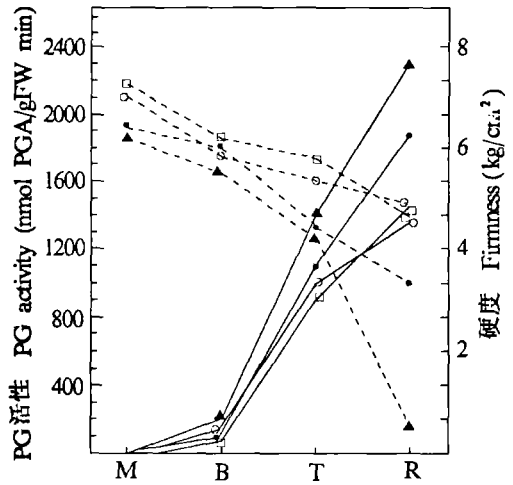


图 4 番茄成熟突变体基因型和正常成熟基因型的杂种一代果实 PG 活性和果实硬度变化

Fig. 4 Polygalacturonase (PG) activity and Firmness of normal (SuKan No.5), *rin* × Normal, *nor* × Normal, *alc* × Normal, F₁ fruits at different stages of ripening

M=绿熟期 Mature green; B=发白期 Breaker stage; T=转色期 Turn colour; R=成熟期 Ripe stage;硬度 Firmness; ——多聚半乳糖醛酸酶 PG; ▲ CK₂(苏抗 5 号); ● *alc* × CK₁; ○ *rin* × CK₁; □ *nor* × CK₁

表 1 番茄成熟突变体及其 F₁ 贮藏指数和天数表

Tab. 1 Accumulate storage index and storage life of tomato fruit of *alc*, *nor*, *rin*, normal and their F₁

基因型 Genotype	贮藏指数 ASI	贮藏期 Store days	杂交组合 Combination	贮藏指数 ASI	贮藏期 Store days
<i>rin</i>	142.3	108.0	<i>rin</i> × CK ₁	58.6	17.5
<i>nor</i>	110.8	92.5	<i>nor</i> × CK ₁	54.8	16.0
<i>alc</i>	98.2	60.0	<i>alc</i> × CK ₁	60.2	18.0
CK ₁ 524 大红 (524 Red)	40.7	7.0	CK ₂ 苏抗 5 号 F ₁ (Sukan No.5 F ₁)	38.9	5.5

3 结论与讨论

3.1 呼吸跃变和骤升是果实成熟的早期标志^(1,11)。因为它可提供能量以驱动参与成熟的各种生化反应。乙烯在果实成熟时促进呼吸上升且可诱导 ACC 合成,从而导致乙烯大量生成,促进果实成熟^(11,10)。关于番茄果实的呼吸跃变是否先于乙烯的增高,意见不一(Burg 1962, Biale 1981)。据 Sawamura (1990) 有关番茄果实内部气体的最新研究表明,乙烯的增加无疑发生在呼吸加速之前。番茄果实成熟突变体 *rin*、*nor* 均属于无呼吸跃变型,主要表现在从绿熟期采收后到贮藏 1 个多月,乙烯含量和呼吸强度均很低, *alc*

是一个特殊的成熟突变体，它无呼吸跃变，但有一小的乙烯峰出现，称之为“半跃变型”^[9]。由于它们的呼吸作用和乙烯合成受到抑制，就导致了成熟的延缓。

3.2 多聚半乳糖醛酸酶在番茄果实成熟中起决定的作用^[6, 15]。它能催化富含多聚半乳糖醛酸的果胶质水解，使解离的水溶性细胞壁组成遭受不同程度的降解，导致果实的软化，硬度下降。在绿果期 PG 测不出，在成熟期便大量累积。含 PG 很低或无 PG 的成熟突变体果实变软很慢或不能变软。因此果实软化与 PG 活性密切相关，PG 含量高，果实极易软化^[16]。

3.3 1979 年 Poovaiah 等人在研究突变体 *rin* 时指出，*rin* 之所以很难成熟，产生极少乙烯，可能是由于不能形成 PG 的缘故^[15]，1989 年 Presscy 和 Baldwin (1990) 用外源 exo-PG 处理跃变前的绿色果实，诱导产生了大量乙烯^[12]。乙烯调节 PG 产生，PG 促使果实变软，所以，突变体果实耐贮性强是与 PG 和乙烯作用减弱密切相关。当然，影响果实成熟的因素很多，也很复杂，抑制果实成熟的机理还不够明确，尚待进一步探讨。

3.4 成熟突变体 *rin*、*nor*、*alc* 材料与正常成熟番茄品种杂交后，F₁ 跃变期较正常品种推迟一周左右，达跃变峰时 CO₂ 和乙烯的含量是正常品种的一半左右，PG 含量相应降低，耐贮性略有提高。

3.5 在今后的耐贮性番茄育种中，要充分利用果实成熟突变体材料，一方面要改良成熟突变体材料普遍存在的果实转色差，座果少，果小等缺点，采用杂交育种和优势育种相结合的方法，选育出既耐贮，果实园艺性状也优良的番茄新品种。另外采用基因工程手段，将反义 PG、ACC 基因导入正常番茄之中，使之表达，形成既耐贮，果实品质又优良的番茄品种。目前，这方面的研究工作正在进行中。

参考文献

- 1 Atherton J G, Rudich J; 郑光华等译. 番茄. 北京农业大学出版社, 1989
- 2 Opeliovitch E K, Y Mizrahi. Effect of the fruit ripening Mutant genes *rin* and *nor* on the flavor of tomato fruit. J Amer Soc Hort, 1982, 107(3): 361~364
- 3 Tingchelaar E C, McGlasson W B. Genetic Regulation of Tomato Fruit Ripening, Hortscience. 1978, 13(5): 508~513
- 4 宋 钧, 于 梁. 利用红外线 CO₂ 分析仪测定果蔬贮藏中呼吸强度的技术. 植物生理学通讯, 1987, 6: 60~62
- 5 王坤范. 几种测定果实组织乙烯浓度的取样方法. 植物生理学通讯, 1982, 2: 48~49
- 6 Zainon Mohd Ali, C-J Brad. Purification and Characterization of the polygalacturonase of Tomato Fruits. Aust J Plant physiol, 1982, 9: 155~169
- 7 周培根. 桃成熟期间果实软化与果胶及有关酶的关系. 南京农业大学学报, 1991, 14(2): 33~37
- 8 Nelson N A. Photometric Adaptation of the Somogy method for the Determination of Glucose. T Bial chem, 1944, 153: 357~380
- 9 Lobo M, Bassett H J, Harrah L C. Inheritance and characterization of the Fruit Ripening Mutation in 'Alcobaca' Tomato J Amer Soc. Hort Sci, 1984, 109(5): 741~745
- 10 Herner R C, K C Sink J R. Ethylene Production and Respiratory Behavior of the *rin* Tomato Mutant. Plant physiol, 1973, 52: 38~42
- 11 刘愚. 植物体内乙烯生物学作用及其调节控制. 植物学报, 1978, 4(2): 203~220
- 12 Elizabeth A B Baldwin. Exopolysaccharide Elicits Ethylene production in Tomato. Hort Science, 1990, 15(7): 779~780
- 13 梁玉法, 放良德, 王明鑫. 多聚半乳糖醛酸酶(PG)在苹果成熟过程中的作用. 植物学报, 1982, 24: 143~145
- 14 Kopcelovitch E, Rabinowitch H D, Mizrahi Y. Mode of Inheritance of *alcobaca*, A Tomato Fruit-ripening Mutant. Euphytica, 1981, 30: 223~225
- 15 Tingchelaar E C. Tomato Ripening Mutants. Hort Science, 1978, 13(5): 502
- 16 Raof A Al-Falluhi, Victor N Lambeth. Inheritance of pericarp Tissue Firmness in Tomato. HortScience, 1980, 15(3)