

马 丽, 乔 军, 吕春晶, 等. 不同质地葡萄果实果胶含量及基因表达差异分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(13): 64–69.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.13.011

不同质地葡萄果实果胶含量及基因表达差异分析

马 丽¹, 乔 军², 吕春晶¹, 孙凌俊¹

(1. 辽宁省果树科学研究所, 辽宁营口 115009; 2. 辽宁农业职业技术学院, 辽宁营口 115009)

摘要:为探究不同质地葡萄果实软化过程、果胶含量及其相关基因表达等方面的差异,以果实质地差异较大的脆肉型葡萄品种红地球和软肉型葡萄品种玫瑰香为试材,测定不同发育时期 2 个品种果皮硬度、果皮破裂距离、果肉硬度、糖、酸、果胶含量以及果胶降解酶基因表达量变化,并进行差异分析。结果表明,随着果实发育,红地球果皮穿刺硬度和果肉硬度均明显高于玫瑰香,果皮破裂距离明显低于玫瑰香,原果胶含量一直高于玫瑰香,可溶性果胶含量始终低于玫瑰香,果胶降解酶 β -GAL、PG、PL 基因表达量也是显著低于玫瑰香的。综上认为,果胶参与了葡萄果实软化及不同质地形成过程,较高的原果胶含量和果胶降解酶基因低表达可能是造成红地球果实质地硬脆的主要原因。

关键词:葡萄;质地;果胶;果胶降解酶基因;果实软化

中图分类号:S663.101

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2022)13-0064-06

葡萄属于葡萄科(Vitaceae)葡萄属(*Vitis*)多年生植物,是世界上最古老的物种之一,其果实可用于鲜食、酿酒和制干,具有很高的经济价值^[1]。葡萄在世界果树生产中占有非常重要的位置,据联合国粮食及农业组织(FAO)统计,2018 年全世界葡萄栽培面积约为 715.8 万 hm^2 ,总产量约为 7 912.6 万 t。我国葡萄栽培面积达到 79.8 万 hm^2 ,约占全球总面积的 11.1%,产量 1 349.5 万 t,约占全球葡萄总产量的 17.1% (<http://www.fao.org/faostat/en/#data>),是世界葡萄的第一生产大国。就全世界葡萄生产而言,近 70% 的葡萄用于加工,超 30% 的葡萄用于鲜食,而我国则以鲜食为主,占据 70% 以上,鲜食葡萄生产是我国葡萄产业的主体^[2]。

葡萄属于典型的非呼吸跃变型果实,果实软化发生时间比呼吸跃变型果实要早,且由于其为浆果,果实皮薄,汁多,在食用、运输贮存过程中易发生破裂、腐烂等问题,所以就其鲜食品质而言,果实质地已经成为判断鲜食葡萄果实新鲜程度的一个重要指标。不同葡萄品种间果实质地存在较大差

异,脆肉型品种一直备受消费者关注,现已成为重要的育种材料及目标品种^[3],然而造成不同品种间质地差异的机制还不是很清楚。因此,了解葡萄果实成熟软化及不同质地形成因素,对于葡萄综合品质改良及葡萄栽培有着非常重要的理论意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验选用脆肉型葡萄品种红地球(*V. vinifera* L.)和软肉型葡萄品种玫瑰香(*V. vinifera* L.)为试材,2 个品种均定植于沈阳农业大学葡萄试验园内(41°50'24"N,123°24'41"E),管理水平一致。鉴于 2 个葡萄品种在辽宁省沈阳地区物候期接近,2018 年 2 个品种分别于盛花后 56 d(转色前)开始采样,每隔 7 d 采样 1 次,直到果实成熟。采样时间均定在 08:00 进行,采集方式:每个品种随机选取长势较为一致的 6 株树,在植株的不同位置选取 20 个果粒作为 1 个重复,每个时期采集 3 个重复,用装有冰袋的保温箱迅速带回实验室。在实验室内,每个重复样品随机选取 5 个果粒,将种子剔除,果实磨成细末状,用锡纸包好,经液氮冷冻 1 h 后置于 -80 °C 超低温冰箱保存备用。其他果实放入 4 °C 冰箱用于果实质地及内含物测定。

1.2 试验方法

1.2.1 果实质地相关指标测定 葡萄果实质地测定采用整果穿刺测试法^[4]。穿刺试验使用的是英国 Stable Micro Systems 公司生产的 TA.XT Plus 质

收稿日期:2021-11-26

基金项目:农业攻关及产业化项目(编号:2020JH2/10200019);现代农业产业体系专项(编号:CARS-29-6);农业种质资源发掘、创制与利用专项(编号:2021GR2904)。

作者简介:马 丽(1980—),女,辽宁铁岭人,博士,副研究员,从事葡萄资源及育种工作。E-mail:43845590@qq.com。

通信作者:孙凌俊,硕士,副研究员,从事葡萄栽培及育种工作。E-mail:zglynksj@163.com。

构仪,穿刺试验选择 2 mm 直径的 P/2 针状探头,测试在室温下进行,测试时将被测试的浆果放置在质构仪载物台的中心位置,用手稍稍固定,力量以不压迫果实为宜,样品被穿刺部位为葡萄浆果中部偏上区域^[5]。质构仪主要参数设定为测前速度为 1 mm/s,贯穿速度为 1 mm/s,测后速度为 10 mm/s,穿刺深度设为 7 mm,负载触发力为 5 g。参数设定时需要注意,穿刺既要保证一定的穿刺深度,又要避免在穿刺过程中探头接触到葡萄种子,影响测试结果。质地相关指标包括:果皮硬度(PPH)、果皮破裂距离(PB)、果肉硬度(SF),果皮硬度是从探头接触果皮开始,到探头穿刺果皮瞬间所用的力(g);果皮破裂距离是从接触到刺破果皮瞬间探头下行位移(mm);果肉硬度是探头穿刺果肉到测试结束所测感应力的平均值(g)。

1.2.2 总糖和总酸含量测定 葡萄果实中总糖和总酸含量利用高效液相色谱仪 Agilent1260(美国安捷伦公司)进行测定。吸取挤压好并混和均匀的葡萄汁,加入超纯水定容至 10 mL,吸取定容后果汁 2 mL 置于离心管中,12 000 r/min 离心 10 min。然后吸取上清液和 pH 值 = 2.6 的磷酸二氢钾盐溶液各 500 μ L 至新的 2 mL 离心管中进行总酸的提取,加入等体积的乙腈进行总糖的提取,后使用水系微孔滤膜进行过滤,过滤后的溶液用于上机检测。

总糖含量测定使用的是 Agilent Zorbax Carbohydrate 色谱柱(4.6 \times 250 mm,5 μ m)和示差折光(RID)检测器,柱温为 40 $^{\circ}$ C,运行时间为 15 min;流动相体积比为 75 : 25 的乙腈和纯净水,流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μ L。

总酸含量测定使用的是 Agilent SB - AQ 色谱柱(4.6 \times 250 mm,5 μ m),G1314B 可变波长紫外检测器(VWD),参数为柱温 25 $^{\circ}$ C,波长 210 nm,运行时间 15 min。流动相为体积比为 95 : 5 的 10 mmol/L 磷酸二氢钾和甲醇溶液,流速 0.8 mL/min,进样量为 10 μ L。

1.2.3 果胶含量测定 原果胶和可溶性果胶采用

比色法测定^[6],略有改动。具体方法如下:称取 1.0 g 带果皮的果肉组织,在液氮保护下研成匀浆,转到事先装好 25 mL 的 95% 乙醇溶液的 50 mL 离心管中,沸水加热 30 min,在煮沸的过程中要及时补加 95% 乙醇溶液,冷却至室温后,需 8 000 r/min 离心 15 min,去除上清液,再加入 95% 乙醇溶液,沸水浴加热,如此反复 3 次。然后将沉淀置于 20 mL 蒸馏水中,50 $^{\circ}$ C 保温 30 min 后,溶解果胶。取出冷却至室温,8 000 r/min 离心 15 min,再将上清液用蒸馏水定容至 100 mL,该液为水溶性果胶;在沉淀中加入 25 mL 0.5 mol/L 的硫酸溶液,沸水加热 1 h,取出冷却至室温,于 8 000 r/min 离心 15 min,上清液用蒸馏水定容至 100 mL,该液为原果胶。测定时吸取 1 mL 提取液,加入 6 mL 浓硫酸,沸水加热 20 min,冷却室温后,加入 0.2 mL 1.5 g/L 咔唑 - 乙醇溶液,暗处放置 30 min 后,测定反应液在 530 nm 处的吸光度,重复 3 次。根据溶液吸光度,在标准曲线上查出相应的半乳糖质量,计算果胶含量,以生成的半乳糖醛酸的质量百分数表示果胶含量。

1.2.4 荧光定量 PCR 分析 将 2 个品种花后 56、63、70、84、98 d 的果实样品进行总 RNA 提取,反转录合成后的 cDNA 稀释 5 倍作为候选基因差异表达分析的模板。实时荧光定量反应在 ABI QuantStudio 6 Flex System(Applied Biosystems, Foster City, CA, 美国) 384 孔仪器上进行,使用 SYBR [®] PremixExTaq[™] II (Takara, Madison, WI, 美国) 制造反应混合液。以 *Actin* 作为内参基因,使用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 计算差异表达值,所有样品进行 3 次生物学重复,RT - PCR 引物采用 Primer3 设计,相关引物信息见表 1。

2 结果与分析

2.1 果实发育过程中果实质地差异变化

葡萄果实质地是评价果实成熟软化的一项重要依据,对红地球和玫瑰香 2 个品种各发育阶段果实质地进行测定,由图 1 分析发现,红地球和玫瑰香 2 个品种果皮硬度在转色期(花后 63 d)之前均保

表 1 相关基因 RT - PCR 引物

基因 ID	基因名	引物序列(5'→3')
LOC100262510	β - GAL	F: ACCGTCAACCTCCTATGCAA; R: CACGTACCAGTCTCCCTCTC
LOC104880619	PE	F: ATCCCCAGTCTCTCAGTGTTG; R: GATTTGACGATGGGGTGAGC
LOC100855221	PG	F: ACGACTATTGCCAGGACCCC; R: TTCTTGGCAAAGCTGGACCCA
LOC100255011	PL	F: TGGCGCATCTTGATGGTGGA; R: TGCCTCCACCACCTCAAGAA
AF369524	Actin	F: CAAGAGCTGGAACTGCAAAGA; R: AATGAGAGATGGCTGGAAGAGG

持在较高水平,随着发育时期递进,软肉玫瑰香在转色期后,果皮硬度迅速下降,直到成熟期达到最低值,而脆肉红地球果皮硬度下降时期较玫瑰香晚,在花后 70 d 才开始下降。虽然在花后 84 d 时,2 个品种果皮硬度接近,但成熟时红地球果皮硬度还是远高于玫瑰香的果皮硬度。果皮破裂距离可以反映果皮被刺穿时浆果形变的程度。由图 2 可知,2 个品种果皮破裂距离呈相似的增长趋势,转色前期,2 个品种果皮破裂距离都处于较低水平,转色期红地球和玫瑰香果皮破裂距离比较接近,分别为 2.00、2.05 mm,而后随着果实成熟,果皮破裂距离迅速增大,成熟期相差较大,分别为 3.68、5.13 mm,整个发育过程红地球的果皮破裂距离都明显低于玫瑰香的果皮破裂距离。由图 3 可知,果肉硬度更多反映的是果肉的机械性能,果实整个发育过程中,2 个品种果肉硬度变化趋势与果皮硬度的变化趋势相似,即随着果实的生长发育果肉硬度逐渐降低,转色后下降速度迅速增快,近成熟期果肉硬度变化较为平缓,成熟期时红地球和玫瑰香果肉硬度分别降到了 44.6、26.28 g,并且在每个发育阶段红地球的果肉硬度都高于玫瑰香的果肉硬度。

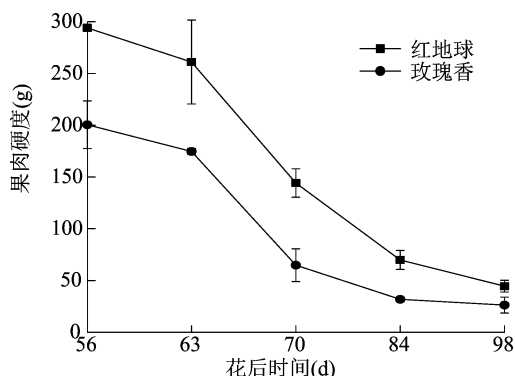


图3 果实发育过程中果肉硬度变化

关的内含物也发生了明显的变化,总糖含量增加,总酸含量降低。由图 4 可知,转色前期葡萄果实内总糖含量较低,随着果实转色,迅速增加,在果实成熟时达到最高,而后基本保持不变。红地球在转色后 1 周总糖含量增加较慢,出现了一个平台期,而后迅速增加,成熟期达到最高。玫瑰香总糖含量增加比红地球快,且玫瑰香各个时期的总糖含量均明显高于红地球。由图 5 可知,果实内总酸含量随着果实的成熟逐渐降低,红地球是个退酸较快的葡萄品种,转色时总酸含量急剧下降,而后变化较为平缓,但总酸水平也逐渐降低,直到成熟。玫瑰香果实内的总酸含量也随着果实成熟软化逐渐下降,但各时期含量都高于红地球。

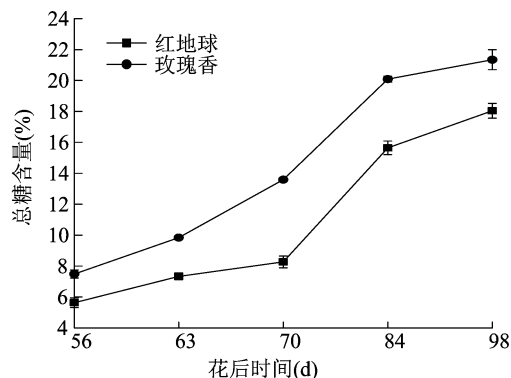


图4 果实发育过程中总糖含量变化

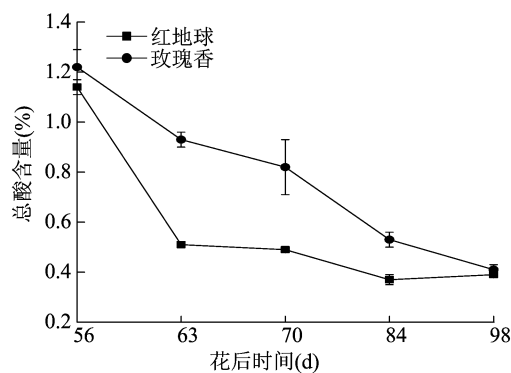


图5 果实发育过程中总酸含量变化

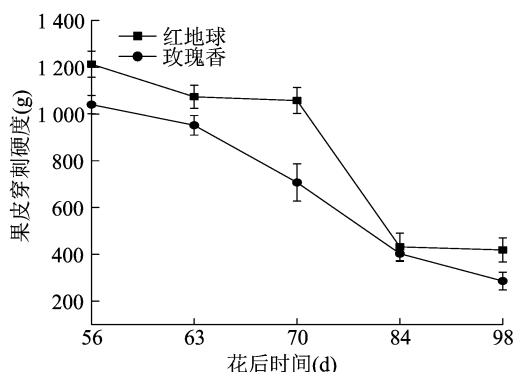


图1 果实发育过程中果皮穿刺硬度变化

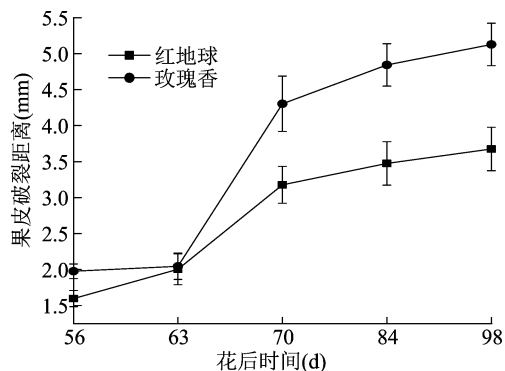


图2 果实发育过程中果皮破裂距离变化

2.2 果实发育过程中果实糖酸含量变化

伴随着果实的发育、成熟软化,与成熟软化相

2.3 果实发育过程中果胶含量变化

随着葡萄果实的成熟软化,果实细胞壁发生降解,果实质地发生了显著变化,果胶作为细胞壁基质中含量最高的一类大分子物质,其组分和含量也发生了变化。由图 6 可知,随着葡萄果实的生长发育,2 个品种原果胶含量逐渐下降,但在整个发育阶段,红地球果实内的原果胶含量一直高于玫瑰香。随着果实的成熟软化,原果胶在相关酶的作用下分解成可溶性果胶含量,可溶性果胶呈逐渐增加趋势,且在转色后增加速度较快,与原果胶相反,红地球果实内的可溶性果胶含量一直低于玫瑰香(图 7)。

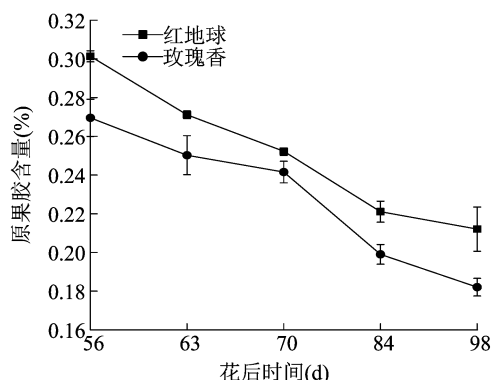


图6 果实发育过程中原果胶含量变化

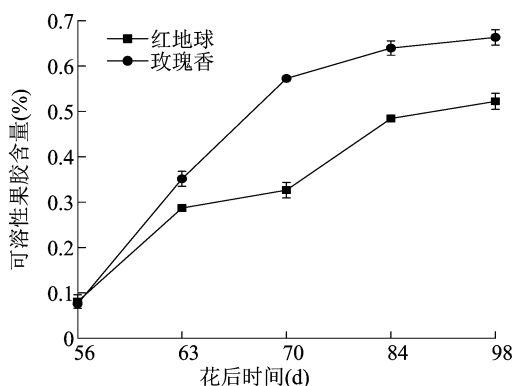
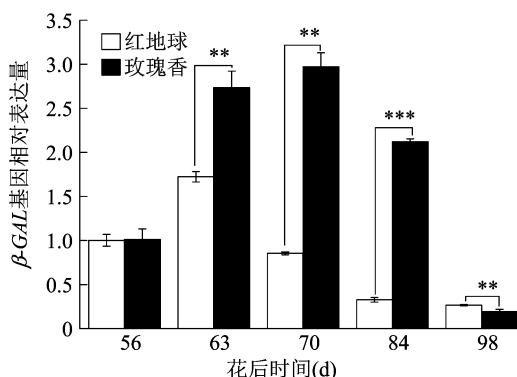


图7 果实发育过程中可溶性果胶含量变化

2.4 果实发育过程中果胶降解酶基因的表达

由图 8 可知, β -GAL 表达量在软肉玫瑰香和脆肉红地球中均呈先升高后降低的趋势。在转色前期,2 个品种的表达式接近,转色期二者表达式均迅速增加,此后 β -GAL 在 2 个品种中的表达式发生变化。脆肉红地球中 β -GAL 的表达式在转色期达到最高值后逐渐下降,在成熟期达到最低值,而软肉玫瑰香中的表达式在转色后继续升高,花后 84 d 略有降低,但都处于较高水平,而在成熟期表达式才下降到较低水平。在葡萄果实转色后的各个时期,软肉玫瑰香中 β -GAL 的表达式一直极显

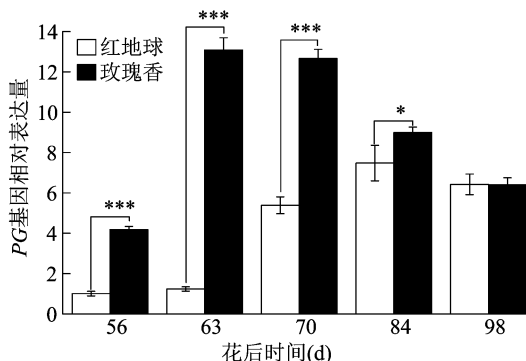
著高于脆肉红地球中的表达式(除花后 98 d)。结果表明, β -GAL 基因可能在转色后期调控了葡萄不同质地形成。



*, **, *** 分别表示在 0.05、0.01、0.001 水平上差异显著。下图同

图8 果实发育过程中 β -GAL 基因表达量

PG 表达量在软肉葡萄玫瑰香转色期即迅速升高,而后持续较高水平,在花后 84 d 开始下降,而 PG 在脆肉葡萄红地球中的表达式在果实发育前期一直处于较低水平,花后 70 d 才开始逐渐升高,花后 84 d 达到最高值后又略有下降(图 9)。比较 2 个品种各个时期 PG 的表达式,发现在转色前后表达式差异极显著,随着果实成熟软化表达式差异变小,但仍然是软肉葡萄玫瑰香中的表达式明显高于脆肉葡萄红地球中的表达式。结果说明 PG 可能对葡萄成熟软化及不同质地形成起到一定作用。



*, **, *** 分别表示在 0.05、0.01、0.000 1 水平上差异显著。下图同

图9 果实发育过程中 PG 基因表达量

PL 表达量在 2 个品种中的变化趋势明显不同,在整个发育阶段,软肉葡萄玫瑰香中 PL 的表达式一直处于较高水平,而在脆肉葡萄红地球中表达式呈现出先升高后降低再升高的趋势,且各个时期,在软肉葡萄玫瑰香中的表达式一直极显著高于在脆肉葡萄红地球中的表达式(图 10)。结果表明,PL 很可能调控了葡萄果实的成熟软化及质地的形成。

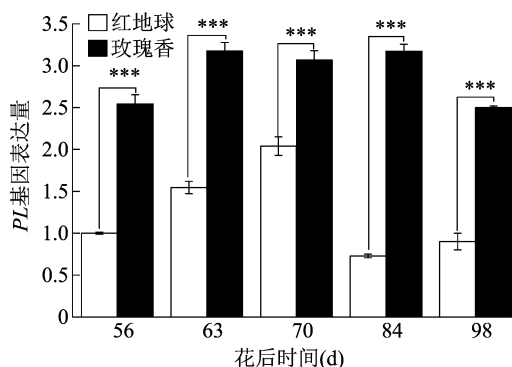


图10 果实发育过程中 PL 基因表达量

3 结论与讨论

3.1 果胶变化与不同质地形成的关系

果胶是果实细胞壁中非常重要的大分子物质,其组分和含量对果实质地都会产生一定的影响。Dong 等以 2 个欧洲冬梨品种为试材,对贮存 5 个月后可溶性果胶(WSP)含量和果胶降解酶活性进行测定,得出欧洲梨果实质地与 PG、PL、PME、 β -GAL、 α -ARF 等果胶降解酶高度相关,WSP 含量越高,果实硬度越低,认为果实中 WSP 可以通过减少细胞黏附,使果实更容易软化^[7]。Yang 等发现沉默 *SIPL* 基因的番茄果实中可溶性果胶含量降低,果实硬度增加,认为可溶性果胶含量与番茄果实硬度密切相关^[8]。管雪强等对红地球葡萄进行喷钙处理,结果发现外源钙可以增加果实内原果胶含量、总果胶含量以及果实硬度,且发现果实硬度与果胶含量呈极显著正相关^[9]。本研究发现脆肉葡萄红地球中原果胶含量在各时期都显著高于软肉葡萄玫瑰香中的含量,且果皮硬度和果肉硬度与原果胶含量呈极显著正相关,这与管雪强等的研究结果相似,与可溶性果胶含量呈极显著负相关,与 Dong 等的结论^[7]相似。

3.2 果胶降解酶基因与葡萄不同质地形成的关系

PG 和 PL 基因可以降解去甲酯化的果胶,参与果实成熟软化过程。Villarreal 等研究发现,可编码 PG 酶活性的 *FaPGI* 基因在脆肉草莓中低表达,而在软肉草莓中高表达,而 *T-PG* (缺少 PG 5' 端 85 bp 而导致编码无活性的 PG 酶) 基因表达模式正好相反,在脆肉草莓中高表达,在软肉草莓中低表达^[10]。Fabi 等研究得出了 *CpPGI* 基因在木瓜果实成熟软化中的关键作用^[11]。Atkinson 等发现 *PGI* 基因可以通过影响细胞壁降解和降低细胞间黏稠度来调控苹果果实硬度^[12]。也有研究得出不同 PG 活性造成了葡萄果实质地的差异^[13]。PL 基因被认

为是调节果实成熟软化的一种重要的候选基因。有研究者认为草莓果实成熟软化与 PL 基因有着直接的关系^[14-15]。Nunan 等发现 PL 基因高表达可以促进葡萄果实软化^[16]。本研究发现不同质地葡萄果实的 PG、PL 基因表达模式相近,随着果实成熟表达量增加,但比较二者表达量发现软肉葡萄玫瑰香中的表达量高于脆肉葡萄红地球中的表达量,这可能是造成不同质地果实形成的关键因素,该结论与前人的研究结果相似。

Smith 等研究得出 β -Gal 在草莓果实成熟软化过程中起到了关键作用^[17]。Paniagua 等研究发现, *Fa β Gal4* 基因在草莓成熟过程中,参与了共价果胶的溶解过程,降低了果实硬度,得出 *Fa β Gal4* 的表达与草莓果实硬度密切相关^[18]。本研究发现在葡萄果实成熟软化早期,软肉型玫瑰香中 β -Gal 的表达量迅速升高,且在整个成熟过程中,软肉型玫瑰香 β -Gal 的表达量远远高于脆肉红地球中的表达量,结果表明 β -Gal 对葡萄果实质地差异形成起到一定作用,与前人的研究结果相似。

参考文献:

- [1] Dai Z W, Vivin P, Barrieu F, et al. Physiological and modelling approaches to understand water and carbon fluxes during grape berry growth and quality development; a review [J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2009, 16(S1): 70-85.
- [2] 刘俊, 晁无疾, 亓桂梅, 等. 蓬勃发展的中国葡萄产业 [J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2020(1): 1-8.
- [3] Sato A, Yamada M, Iwanami H. Estimation of the proportion of offspring having genetically crispy flesh in grape breeding [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2006, 131(1): 46-52.
- [4] 张翔宇, 李喜宏, 王妍丹, 等. 穿刺测试和 fisher 判别法在葡萄贮藏期间质地评价的应用 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(3): 342-347, 352.
- [5] Letaief H, Rolle L, Zeppa G, et al. Assessment of grape skin hardness by a puncture test [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88(9): 1567-1575.
- [6] Wang D D, Yeats T H, Uluisik S, et al. Fruit softening: revisiting the role of pectin [J]. Trends in Plant Science, 2018, 23(4): 302-310.
- [7] Dong Y, Zhang S Y, Wang Y. Compositional changes in cell wall polyuronides and enzyme activities associated with melting/mealy textural property during ripening following long-term storage of 'Comice' and 'd'Anjou' pears [J]. Postharvest Biology and Technology, 2018, 135: 131-140.
- [8] Yang L, Huang W, Xiong F J, et al. Silencing of *SIPL*, which encodes a pectate lyase in tomato, confers enhanced fruit firmness, prolonged shelf-life and reduced susceptibility to grey mould [J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15(12): 1544-1555.

谢全森,宋 磊,刘艺冉,等. 中华鳖营养需求与饲料研究进展[J]. 江苏农业科学,2022,50(13):69-76.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.13.012

中华鳖营养需求与饲料研究进展

谢全森¹, 宋 磊², 刘艺冉¹, 张配瑜³

(1. 邯郸学院生命科学与工程学院,河北邯郸 056005; 2. 邯郸学院马克思主义学院,河北邯郸 056005;

3. 河北师范大学生命科学学院,河北石家庄 050024)

摘要:中华鳖是我国重要的特色淡水养殖品种,其营养需求的研究起步较晚,以往的饲料配方参数主要借鉴鳊料,制约了中华鳖养殖业的绿色高质量发展。近年来,关于中华鳖的营养需求与饲料研究越来越全面,因此,本文重点总结了中华鳖对蛋白质、脂肪、氨基酸、脂肪酸、微量营养素等的需求,饲料中鱼粉和鱼油替代研究、饲料添加剂应用及其饲料产业发展现状,以期中华鳖精准营养数据库的建立和高效环保饲料的配制提供参考依据。稚鳖对蛋白质的适宜需求量为 32%~50%,赖氨酸和蛋氨酸需求量分别为 2.40% 和 1.23%,脂肪的需求量为 11.1%~35.7%,DHA 需求量 1.1%,碳水化合物需求量为 17%~28%,磷需求量为 0.30%;稚鳖能较好地利用动物蛋白原料,一些功能性添加剂有促生长和提高免疫的功效,关于鱼油替代和维生素 and 矿物盐需求的研究还不够全面。同时对中华鳖营养需求提出了展望。

关键词:中华鳖;营养需求;配合饲料

中图分类号:S966.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)13-0069-08

中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)属于动物界爬行纲龟鳖目鳖科鳖属,是我国重要的特色淡水养殖品种

之一,在我国人工养殖并形成多种地方种群,如台湾种群、黄河种群、日本种群等^[1-2]。1990 年以来,中华鳖在养殖技术及引种方面不断改善,产量也呈日渐上升的趋势。根据 2019—2021 年的《中国渔业统计年鉴》数据显示,我国养殖中华鳖产量在 2018—2020 年持续稳定在 33 万 t 左右^[3-4]。

中华鳖在国内养殖使用人工饲料,但我国对于该品种营养需求研究起步比较晚,其自身生长过程

收稿日期:2022-03-09

基金项目:河北省农业产业技术体系淡水养殖创新团队二期项目(编号:HBCT2018180205)。

作者简介:谢全森(1983—),男,河北永年人,博士,讲师,主要从事水产动物营养与动保研究。E-mail: xiequansen@163.com。

通信作者:张配瑜,博士,讲师,主要从事水产动物营养与饲料学研究。E-mail: peiyuz@hebtu.edu.cn。

[9]管雪强,杨 阳,王恒振,等. 喷钙对红地球葡萄果实钙、果胶含量和品质的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2014,20(1):179-185.

[10]Villarreal N M, Rosli H G, Martínez G A, et al. Polygalacturonase activity and expression of related genes during ripening of strawberry cultivars with contrasting fruit firmness[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 47(2):141-150.

[11]Fabi J P, Broetto S G, da Silva S L G L, et al. Analysis of *Papaya* cell wall-related genes during fruit ripening indicates a central role of polygalacturonases during pulp softening[J]. PLoS One, 2014, 9(8):e105685.

[12]Atkinson R G, Sutherland P W, Johnston S L, et al. Down-regulation of *POLYGALACTURONASE1* alters firmness, tensile strength and water loss in apple (*Malus × domestica*) fruit[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12:129.

[13]Balic I, Ejsmentewicz T, Sanhueza D, et al. Biochemical and physiological study of the firmness of table grape berries[J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 93(2):15-23.

[14]Youssef S M, Jiménez-Bermúdez S, Bellido M L, et al. Fruit yield and quality of strawberry plants transformed with a fruit specific strawberry pectate lyase gene[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 119(2):120-125.

[15]周鹤莹,张 玮,张 卿,等. 森林草莓‘Ruegen’果胶裂解酶基因的克隆及荧光定量表达分析[J]. 园艺学报, 2015, 42(3):455-461.

[16]Nunan K J, Davies C, Robinson S P, et al. Expression patterns of cell wall-modifying enzymes during grape berry development[J]. Planta, 2001, 214(2):257-264.

[17]Smith D L, Abbott J A, Gross K C. Down-regulation of tomato beta-galactosidase 4 results in decreased fruit softening[J]. Plant Physiology, 2002, 129(4):1755-1762.

[18]Paniagua C, Blanco-Portales R, Barceló-Muñoz M, et al. Antisense down-regulation of the strawberry β -galactosidase gene Fa β Gal4 increases cell wall galactose levels and reduces fruit softening[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 67(3):619-631.