



三种酶对采后‘海沃德’和‘华特’猕猴桃 AsA 的氧化作用

封琦¹, 李朝政¹, 高贵田¹, 吴悠¹, 肖妍¹, 赵武奇¹, 雷玉山²

(¹陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 西安 710119; ²陕西省农村科技开发中心, 西安 710054)

摘要:【目的】探究‘海沃德’‘华特’猕猴桃果实采后影响抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)氧化的相关酶活性及基因表达差异,为猕猴桃采后 AsA 氧化机制的系统研究,调控果实成熟和衰老进程,并有效保持果实采后品质和延长贮藏时间等研究提供理论依据。【方法】以‘海沃德’‘华特’猕猴桃作为试验材料,测定两个品种的果实在采后 25℃贮藏条件下 AsA、总抗坏血酸(total ascorbic acid, T-AsA)、脱氢抗坏血酸(dehydroascorbic acid, DHA)、AsA/DHA、与 AsA 氧化相关的抗坏血酸氧化酶(ascorbic acid oxidase, AO)、漆酶(Laccase)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)的活性及相关酶基因的表达,研究两个品种猕猴桃果实 AsA 含量变化与 AO、漆酶、APX 活性及相关酶基因的相关性。【结果】‘海沃德’猕猴桃采后初期 AsA 含量为 86.9 mg/100 g FW,到贮藏末期损失约 45%,而‘华特’猕猴桃在采后初期 AsA 含量较高,为 610 mg/100 g FW,中期上升至峰值 886 mg/100 g FW,末期下降到 778 mg/100 g FW,高于采后第 1 天 AsA 含量,整体呈上升趋势;两个品种 DHA 含量在整个贮藏期整体呈下降趋势,但‘海沃德’猕猴桃中 DHA 含量始终低于‘华特’;T-AsA 含量与其 AsA 含量的变化趋势接近;整个贮藏后期,‘海沃德’猕猴桃的 AsA/DHA 比值远低于‘华特’。AO 活性与两个品种猕猴桃 AsA 含量呈显著负相关性,漆酶活性与两个品种猕猴桃 AsA 含量呈负相关性;从采后第 8 天开始,‘华特’的 AO 活性低于‘海沃德’,在整个贮藏期,‘华特’猕猴桃中漆酶活性都低于‘海沃德’;且在采后第 11 天,‘华特’中 AO 和漆酶活性均达到最低值,‘海沃德’中漆酶活性在采后第 16 天达到最高值;APX 对 AsA 含量的影响较小,其活性与 AsA 变化无显著相关性。AO 基因家族中的 3 个基因中, *Achn020161* 是 AsA 氧化分解的关键基因,而 *Achn191341* 和 *Achn316521* 与 AsA 的氧化无显著相关性;漆酶基因家族中的 3 个基因中, *Achn007661*、*Achn191341* 对 AsA 含量变化有一定影响,而 *Achn163871* 与 AsA 的氧化无显著相关性;APX 基因家族中的 *Achn123021*、*Achn082241*、*Achn187071* 对 AsA 含量的变化有一定影响,但均不是氧化 AsA 的关键基因。【结论】AsA/DHA 的高比值对 AsA 的积累起重要作用, AO 是氧化 AsA 的关键酶,漆酶对 AsA 氧化有一定作用, APX 不是主要氧化 AsA 的酶,推测 AO 基因家族中的 *Achn020161* 是氧化 AsA 的关键基因,而漆酶基因家族中的 *Achn007661* 与 *Achn191341* 对氧化 AsA 有一定作用。

关键词: 猕猴桃; ‘华特’; ‘海沃德’; 抗坏血酸; 酶活性; 基因表达

Influence of Three Enzymes on Oxidation of Ascorbic Acid in Postharvest 'Hayward' and 'Huate' Kiwifruit

FENG Qi¹, LI ChaoZheng¹, GAO GuiTian¹, WU You¹, XIAO Yan¹, ZHAO WuQi¹, LEI YuShan²

(¹College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119; ²Shaanxi Rural Science and Technology Development Center, Xi'an 710054)

收稿日期: 2019-07-09; 接受日期: 2019-11-30

基金项目: 陕西省科技厅特色产业链项目(2018TSCXLNY-01-05)

联系方式: 封琦, E-mail: fengqi19970101@snnu.edu.cn. 通信作者高贵田, E-mail: gaoguitian2006@snnu.edu.cn

Abstract: 【Objective】 This study explored the differences in activities of enzymes and their gene expressions related with oxidation of ascorbic acid (AsA) in postharvest Hayward and Huate kiwifruit to provide a theoretical basis for the oxidation mechanism of AsA in postharvest kiwifruit to regulate fruit ripening and senescence, maintain postharvest quality and extend storage life. **【Method】** Hayward and Huate kiwifruit were harvested, and total ascorbic acid (T-AsA), dehydroascorbic acid (DHA), AsA/DHA, and AsA content were measured under the storage conditions of 25°C. Enzyme activity of ascorbic acid oxidase (AO), laccase, ascorbate peroxidase (APX) and gene expression related with AsA oxidation were measured. The relationships between AsA content and the enzyme activity of AO, laccase, APX and gene expression were investigated in the two varieties of kiwifruit. **【Result】** The content of AsA in Hayward was 86.9 mg/100 g FW at the beginning of harvest, and the loss was about 45% at the end of storage. The content of AsA in Huate was higher at the beginning of harvest (610 mg/100 g FW), and it rose to 886 mg/100 g FW, reached its peak value during the storage, and dropped to 778 mg/100 g FW at the end, which was higher than that on the first day after harvest. The DHA content of the two varieties showed a downward trend throughout the whole storage period, but the DHA content of Hayward was lower than that of Huate. The T-AsA content and AsA content change trend was similar. In the later stage of storage, the AsA/DHA ratio of Hayward was much lower than that of Huate. AO activity was significantly negatively correlated with AsA content of two varieties of kiwifruit, and laccase activity was negatively correlated with AsA content. From the 8th day after harvest, the AO activity of Huate was lower than Hayward, and the laccase activity was lower than Hayward during the whole storage period of Huate kiwifruit. The activity of AO and laccase got the lowest value on the 11th day after harvest; laccase activity reached its highest value in Hayward on the 16th day after harvest. APX had little effect on AsA content, and its activity had no significant correlation with AsA content. Among the three genes in the AO gene family, *Achn020161* was a key gene for the oxidative decomposition of AsA, while *Achn191341* and *Achn316521* had no significant correlation with the oxidation of AsA. Among the three genes in the laccase gene family, *Achn007661* and *Achn191341* had certain effect on the change of AsA content, while *Achn163871* had no significant correlation with the oxidation of AsA. *Achn123021*, *Achn082241* and *Achn187071* in the APX gene family had certain effect on the change of AsA content, but they were not key genes for oxidative degradation of AsA. **【Conclusion】** The high ratio of AsA/DHA played an important role in the accumulation of AsA. AO was the key enzyme on the oxidation of AsA, laccase had certain effect, and APX was not a main enzyme in oxidation of AsA. It's speculated that *Achn020161* in the AO gene family was the key gene for oxidizing AsA, and *Achn007661* and *Achn19134* in the laccase gene family had certain effects on the oxidation of AsA.

Key words: kiwifruit; Huate; Hayward; ascorbic acid; enzyme activity; gene expression

0 引言

【研究意义】 抗坏血酸 (ascorbic acid, AsA), 又称维生素 C (Vc), 是广泛存在于植物中的抗氧化剂主要清除细胞内的氧化物和超氧化物, 或作为某些还原酶的辅因子参与还原反应^[1]。AsA 还参与植物的衰老调控^[2]。另一方面, AsA 是人体不可缺少但无法自身合成, 必须从食物中获取的营养物质。猕猴桃 (*Actinidia*) 果实 AsA 含量高于大多数水果, 享有“Vc 之王”的美称。深入了解猕猴桃果实采后 AsA 的变化规律及影响因素, AsA 在成熟与衰老中的作用及其机制, 对调控果实成熟和衰老进程并有效保持果实采后品质和延长贮藏时间具有重要意义。**【前人研究进展】** 植物中 AsA 的含量由合成途径和循环再生途径综合调节^[3]。AsA 主要合成途径为 L-半乳糖途径^[4], 循环再生途径主要为抗坏血酸-谷胱甘肽循环 (AsA-GSH)^[5], 是氧化态 AsA 再生的主要途径。在

该途径中, AsA 通过 APX^[6]或 AO^[7-8], 将 AsA 氧化成单脱氢抗坏血酸 (monodehydroascorbate, MDHA), 同时 AsA 作为电子供体在 APX 清除 H₂O₂ 的过程中被氧化成 MDHA^[6], 部分 MDHA 发生非酶促歧化反应后得到 DHA, 生成的 DHA 借助 AsA-GSH 循环还原成最初的 AsA^[9], APX 对 AsA 的积累有调节作用^[10]。MA 等^[11]研究表明不同品种猕猴桃果实 AsA 含量存在较大差异。原玉林等^[3]研究发现猕猴桃果实生长发育过程中 AsA 含量受合成和再生的共同调控, 不同基因型猕猴桃果实中 AsA 和 AsA 相关氧化物水平存在明显的多样性, 并且 L-半乳糖 1,4-内酯脱氢酶 (GalLDH)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 和单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR) 的活性均与 AsA 含量存在极显著相关性, 并且 MDHAR 活性与 AsA 含量和 APX 都有较高的相关性。目前, 植物 AsA 合成与氧化的研究主要集中在 AsA 生物合成途径方面^[12], 对果蔬采后 AsA 分解氧化及其机理鲜有报道。薛敏

等^[13]研究发现‘海沃德’猕猴桃果实在贮藏期 AsA 氧化率高达 61.5%，另有研究表明，‘华特’猕猴桃在采后 AsA 含量始终保持较高水平，在贮藏末期 AsA 的氧化率只有 10%^[14]。【本研究切入点】笔者课题组前期采用转录组测序技术，发现‘海沃德’猕猴桃采后 AsA 氧化通路中 AO、漆酶基因家族中存在表达差异^[15]，并用实时荧光定量 PCR 进行了验证，为从基因水平研究猕猴桃采后 AsA 分解氧化奠定了基础。【拟解决的关键问题】本研究以 AsA 含量较低、采后流失严重的‘海沃德’猕猴桃和 AsA 含量高、采后流失少的‘华特’猕猴桃作为试验材料，通过研究两个品种的猕猴桃在采后 25℃贮藏条件下 AsA 含量和相关酶活性及其基因表达的变化差异，以期探明影响猕猴桃 AsA 含量变化的相关机制，为今后通过基因层面维持和减少猕猴桃果实采后 AsA 的损失提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

‘华特’猕猴桃、‘海沃德’猕猴桃，于 2017 年 10 月 21 号采于周至县虎峰村的陕西佰瑞猕猴桃研究院有限公司实验基地。

挑选果型大小均匀、完整、无病虫害的果实于采后当天运回实验室。‘华特’猕猴桃、‘海沃德’猕猴桃分别按每 30 个一组放入已消毒的筐中，筐外侧套厚度为 0.05 mm 的聚乙烯薄膜袋，让袋口处于自然合拢状态，置于 (25±0.5)℃ 的恒温箱贮藏；每隔 5 d 分别选‘华特’猕猴桃 30 个和‘海沃德’猕猴桃 30 个，取果实果肉、中轴部分将其切碎混合后用液氮速冻，用锡箔纸把样品包好后存放在 -80℃ 冰箱，用于酶活测定及基因表达研究。

1.2 主要仪器与试剂

仪器：pH 计，北京科伟永兴仪器公司；超高速低温离心机，美国 Sigma 公司；紫外分光光度计，瑞典福斯公司；全波长酶标仪，美国热电公司；BIO-RAD 梯度 PCR 仪，北京元业伯乐科技发展有限公司；DYY-4C 型电泳仪，北京市六一仪器厂；格兰仕微波炉，格兰仕微波炉电器有限公司；XW-80A 漩涡混合仪，海门市其林贝尔仪器制造有限公司；JY02G 型凝胶成像仪，北京君意东方电泳设备有限公司；NanoDrop 2000 微量快速核酸定量仪，赛默飞尔公司；RF-6000 荧光定量 PCR 仪，美国热力公司。

分析纯化学试剂：BP（纯度>97.0%），磷酸，无水乙醇，标准抗坏血酸，氯化铁（FeCl₃），三氯乙

酸（TCA）购于天津天力化学试剂有限公司；HiPure Plant RNA Mini Kit，美基生物工程有限公司；Light cycler RNA SYBR green I，Sigma 生物工程有限公司；TRUEscript 1st Strand cDNA Synthesis Kit，北京艾德莱生物科技有限公司；DNA Marker-D、6×Loading Buffer、EDTA、Tris-HCl、琼脂糖，TaKaRa（大连）生物工程有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 T-AsA、AsA、DHA 含量测定 参考赵玉梅等^[16]的方法测定。

标准曲线制备：在波长 534 nm 处测定吸光值，将 AsA 质量设置为横坐标，吸光度值设置为纵坐标，绘制标准曲线，并求线性回归方程。

样品提取：准确称 4.0 g 猕猴桃果实样品，放入已加 5 mL 50 g·L⁻¹ TCA 溶液的研钵中，冰浴条件下将样品研磨成匀浆后转移到 25 mL 的容量瓶，用 TCA 溶液冲洗研钵一并转移到容量瓶后定容至刻度，摇匀，冰浴条件下提取 10 min 后过滤，将滤液 4℃、12 000 ×g 离心 10 min 后收集上清液，即样品提取液。低温备用（‘华特’猕猴桃果实上清液需稀释 10 倍备用）。

T-AsA 测定：取 1.0 mL 样品提取液，加 0.5 mL 浓度为 60 mmol·L⁻¹ 的 DTT-乙醇溶液，用 Na₂HPO₄-NaOH 溶液将 pH 调至 7—8，室温下静置 10 min，加 0.5 mL 的 TCA 溶液。按照制作标准曲线同样的方法进行测定。记录波长 534 nm 处的吸光值。重复 3 次。

AsA 测定：取 1.0 mL 样品提取液，加 1.0 mL 的 TCA 溶液，按照制作标准曲线同样的方法进行测定。记录波长 534 nm 处的吸光值。重复 3 次。

DHA 含量等于样品中 T-AsA 的含量减去原有的 AsA 的含量。

1.3.2 漆酶、AO、APX 活性的测定 漆酶、AO、APX 活性测定用 Milbio 酶联免疫分析试剂盒（分别为 Plant Laccase ELISA KIT、Plant AO ELISA KIT、Plant APX ELISA KIT）进行测定。

1.3.3 RNA 的提取及质检 裂解液加入浓度为 2%（w/v）的 PVP-40，其余步骤按照植物 RNA 小提试剂盒说明书（HiPure Plant RNA Mini Kit）进行；通过 2% 的琼脂糖凝胶电泳和微量快速核酸定量仪检测 RNA 的纯度、浓度。

1.3.4 单链 cDNA 的合成 将检测合格的 RNA 使用第一链反转录试剂盒（TRUEscript 1st Strand cDNA Synthesis Kit）进行单链 cDNA 合成。

1.3.5 荧光定量 PCR 用 Gene ID 在猕猴桃数据库 (<http://bioinfo.bti.cornell.edu/cgi-bin/kiwi/home.cgi>) 检索并获得相应基因的 CDS 区^[17], 通过 Primer 6.0 软件, 在 NCBI 上使用 Primer-BLAST 程序将设计的引物进行模拟扩增, 通过比对引物扩增的特异性, 筛选出特异性最强的荧光定量 PCR 引物对, 引物见表 1。

表 1 实时荧光定量 PCR 分析使用的引物
Table 1 Primers for quantitative real-time PCR

酶名称 Enzyme name	基因名称 Gene name	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer
抗坏血酸氧化酶 AO	<i>Achn020161</i>	CGGGTCCTGAACTCTACTGC	GCAAGGTAGTCCTGTTTGGA
	<i>Achn230551</i>	CCTGTGTGGAACGATGTGGA	GCGAGGTAAAGGACAGCGTA
	<i>Achn316521</i>	CCAAGTACTCACGGCCACAT	AGTGTCTGCTGGGATGAACG
漆酶 Laccase	<i>Achn007661</i>	CAGTTGTGTCTGTGGATGCT	TGAGAAGTGTCGGCTGGTTA
	<i>Achn191341</i>	GGTGAAATCTGGGGAGACAA	GACTACGACGGATGTGGTTC
	<i>Achn163871</i>	CCCAACAAGTGACAAACATT	CCACTTTGGTTGGAGTAAGC
抗坏血酸过氧化物酶 APX	<i>Achn123021</i>	CAACTGAAGAGTGCCCGAGA	GAATCACCAGCAGCATTGGC
	<i>Achn082241</i>	TCCCGGTACTTTCAGAGGTG	ACCACAACGACCTCAAGTTC
	<i>Achn187071</i>	GGTGGAATGAATGGCTCAAT	CACACGCCTCCAGGTTTATA

1.3.6 数据处理 样品进行 3 次生物学重复取平均值, 运用 SPSS 17.0 进行数据统计和差异性分析, 取 $P<0.05$ 为显著相关, $P<0.01$ 为极显著相关, 采用 Origin 8.6 绘图。

2 结果

2.1 猕猴桃中 T-AsA、AsA、DHA 含量

‘海沃德’和‘华特’猕猴桃在采后贮藏期 AsA 含量存在显著差异(图 1-A)。“海沃德”猕猴桃果实采后第 1 天 AsA 含量只有‘华特’猕猴桃的 14%, 在第 6—11 天下降速度加快, 在第 11—21 天下降速度又趋于平缓, 在贮藏末期, AsA 含量下降了约 45%, 损失严重。‘华特’猕猴桃采后贮藏期 AsA 含量远高于‘海沃德’猕猴桃, 含量呈现先下降后上升的趋势; 在第 6—11 天 AsA 含量急剧上升并达到峰值, 从第 11 天到贮藏末期, AsA 含量缓慢下降, 仍高于采后第 1 天 AsA 含量, 整体呈上升趋势。

‘海沃德’猕猴桃 DHA 含量在整个贮藏期都低于‘华特’猕猴桃, 两个品种都呈现先下降后上升的变化趋势(图 1-B)。“海沃德”猕猴桃第 1—16 天 DHA

按照 Light cycler RNA SYBR green I 试剂盒操作, 以 18s RNA 基因为内参基因进行 qRT-PCR 反应。反应程序为 95℃预变性 10 min, 90℃变性 20 s、61℃退火 20 s, 40 个循环, 熔解曲线温度范围为 55—95℃。分析荧光值变化曲线及熔解曲线, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算两个品种猕猴桃在不同的贮藏天数时 AO、漆酶、APX 相关基因的相对表达量。

含量处于缓慢下降的趋势, 在第 16—21 天含量略有回升, 在第 21 天仍低于初期含量。‘华特’猕猴桃在采后第 1—16 天, DHA 含量处于较快下降的趋势且达到最低点, 16 d 之后含量开始回升, 但仍远低于初期含量。

‘海沃德’和‘华特’猕猴桃的 T-AsA 含量与其 AsA 含量的变化趋势接近(图 1-C)。T-AsA 是 AsA 与 DHA 之和, 由于两个品种的猕猴桃果实中 AsA 含量远远大于 DHA 含量, 因此, AsA 含量的变化直接影响 T-AsA 的变化趋势。

2.2 猕猴桃 AsA/DHA 比值的变化

AsA/DHA 的比值反应果实中 AsA 的氧化还原状态和程度。如图 2, ‘海沃德’和‘华特’猕猴桃在采后初期 AsA/DHA 比值接近, ‘海沃德’AsA/DHA 比值整体缓慢波动呈下降趋势, 而‘华特’呈先上升后下降趋势。在贮藏第 1—6 天, 两个品种的 AsA/DHA 比值都略微上升, ‘华特’上升较快。‘海沃德’在第 6—11 天, AsA/DHA 比值呈下降趋势。‘华特’在第 6—16 天, 比值急剧上升且达到顶峰。在整个贮藏后期, ‘海沃德’猕猴桃的 AsA/DHA 比值远低于‘华特’。

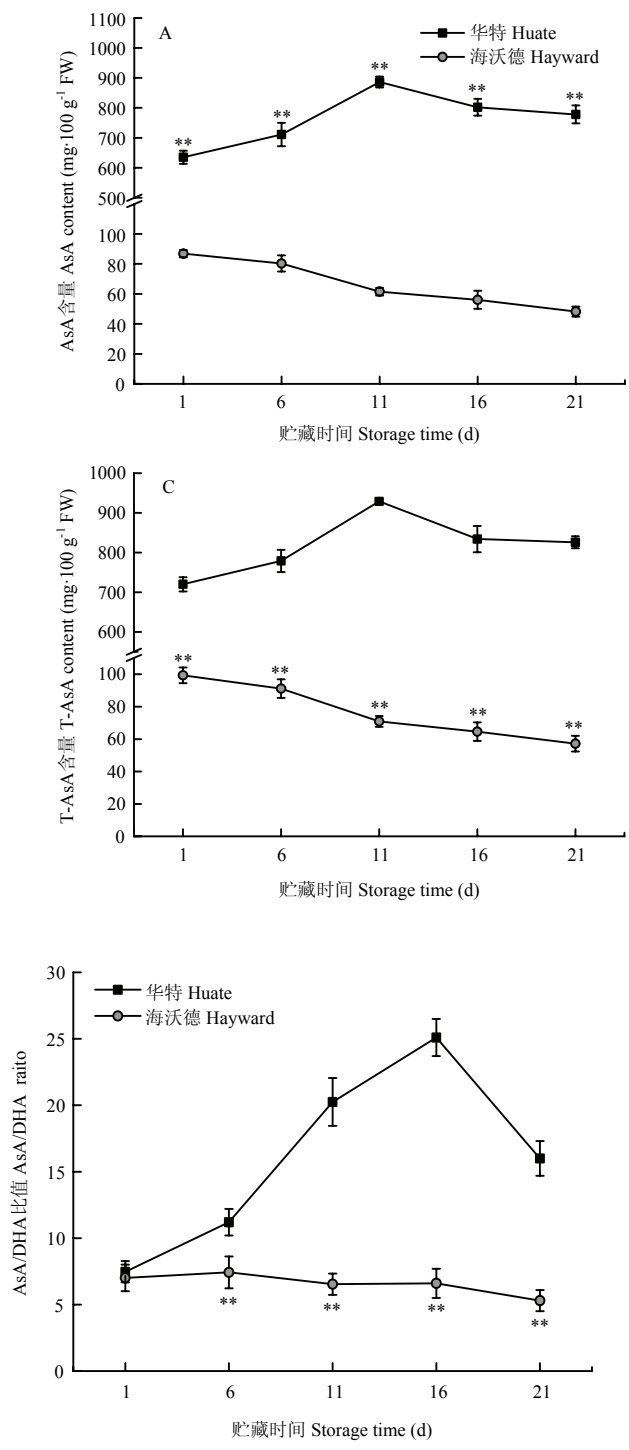


图 2 两个品种猕猴桃采后 AsA/DHA 比值变化

Fig. 2 Changes of AsA/DHA ratio of two varieties of kiwifruit during storage

2.3 猕猴桃 AO、漆酶、APX 活性的变化

‘海沃德’猕猴桃在贮藏期 AO 活性呈先上升后下降的趋势，且在采后初期低于‘华特’，第 1—16

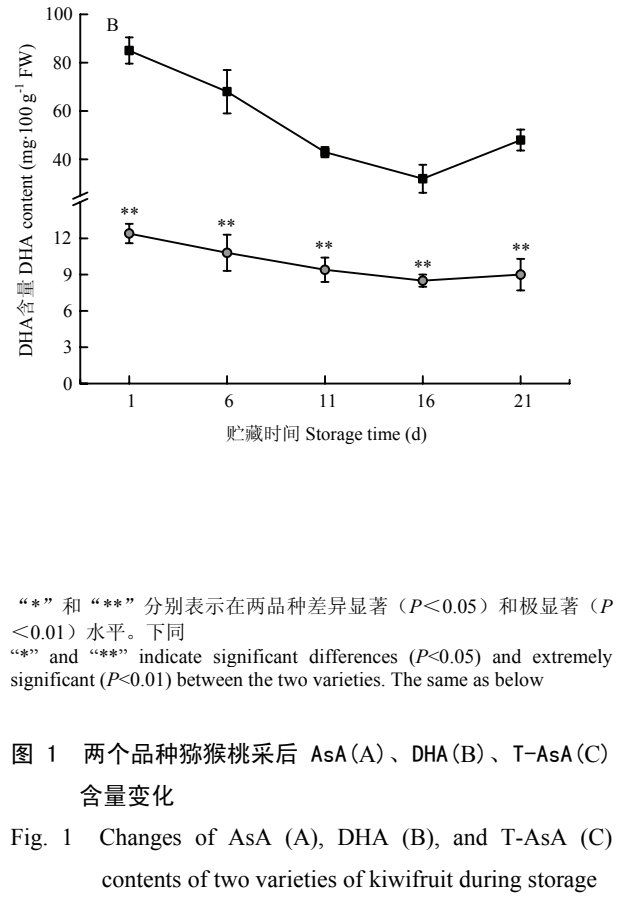


图 1 两个品种猕猴桃采后 AsA (A)、DHA (B)、T-AsA (C) 含量变化

Fig. 1 Changes of AsA (A), DHA (B), and T-AsA (C) contents of two varieties of kiwifruit during storage

天缓慢上升，在第 16 天达到最高值后呈下降趋势。‘华特’猕猴桃在贮藏期 AO 活性呈现先下降后上升的趋势，第 11 天到达最低值，之后活性上升，但仍低于‘海沃德’（图 3-A）。

在整个采后贮藏期，‘海沃德’猕猴桃的漆酶活性始终高于‘华特’，但两者变化趋势相似，均表现为先下降后上升再下降的趋势。‘海沃德’猕猴桃漆酶活性在第 16 天达到峰值后开始下降，在贮藏末期活性仍高于‘华特’；‘华特’猕猴桃在贮藏第 1—11 天时漆酶活性呈快速下降趋势，在第 11 天达到最低值，贮藏末期的活性只有‘海沃德’的一半（图 3-B）。

‘华特’猕猴桃在贮藏期 APX 活性始终高于‘海沃德’，且在第 1 天远高于‘海沃德’，在采后第 1—6 天，‘华特’APX 活性迅速下降，在贮藏后期，呈现波动变化趋势，但始终维持在 $20 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ 以上。

‘海沃德’猕猴桃 APX 活性在贮藏过程中呈先上升后下降的趋势，在第 11 天达到峰值，随后开始下降，贮藏后期活性始终维持在 $14.5 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ 左右（图 3-C）。

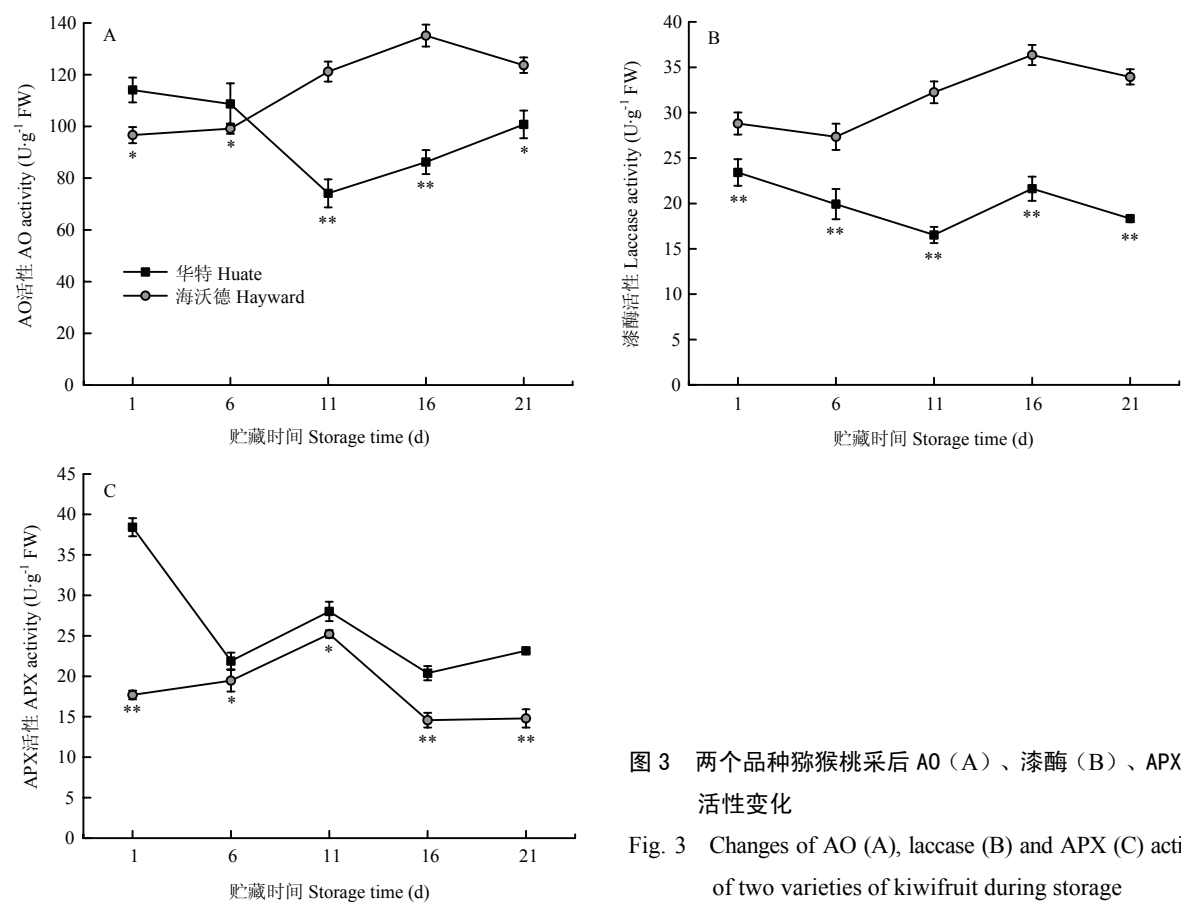


图 3 两个品种猕猴桃采后 AO (A)、漆酶 (B)、APX (C) 活性变化

Fig. 3 Changes of AO (A), laccase (B) and APX (C) activities of two varieties of kiwifruit during storage

2.4 猕猴桃 AsA 含量与 T-AsA、AsA/DHA 及 3 个酶的相关性分析

如表 2, ‘海沃德’猕猴桃中 AsA 含量与 T-AsA 含量呈极显著正相关($P<0.01$),且相关系数为 0.999,

与 AO 活性呈显著负相关性且相关系数为 0.910; ‘华特’猕猴桃 AsA 含量与 T-AsA 含量呈极显著正相关($P<0.01$), 且相关系数为 0.993, 与 AO 活性呈显著负相关($P<0.05$), 且相关系数为 0.958。

表 2 两个品种猕猴桃 AsA 含量与相关指标的相关系数
Table 2 Relation coefficient among AsA content and related indexes of two varieties of kiwifruit

	总抗坏血酸 T-AsA	抗坏血酸/脱氢抗坏血酸 AsA/DHA	抗坏血酸氧化酶 AO	漆酶 Laccase	抗坏血酸过氧化物酶 APX
海沃德 Hayward	0.999**	0.839	-0.910*	-0.875	0.253
华特 Huate	0.993**	0.834	-0.958*	-0.803	-0.500

2.5 两个品种猕猴桃 AsA 氧化相关酶基因相对表达量的变化

Achn020161、*Achn230551* 和 *Achn316521* 是猕猴桃 AO 基因家族中的 3 个基因。两个品种的猕猴桃采后贮藏期内, *Achn020161* 的表达变化趋势如图 4-A 所示, 在 ‘海沃德’ 中的表达量在第 16 天达到峰值; ‘华特’ 猕猴桃的表达量没有明显变化, 且整个贮藏期表达量都明显低于 ‘海沃德’。从图

4-B 可以看出, ‘海沃德’ 猕猴桃 *Achn230551* 处于表达量较低的状态, 且始终低于 ‘华特’; 在 ‘华特’ 中, 其表达量在第 16 天达到峰值, 第 21 天时与最初表达量持平。由图 4-C 可知, ‘海沃德’ 猕猴桃 *Achn316521* 表达量在第 6 天达到最高表达量后急剧下降, 第 11 天后开始上升; ‘华特’ 猕猴桃其基因表达量呈波动变化, 贮藏末期与最初表达量没有明显差异。

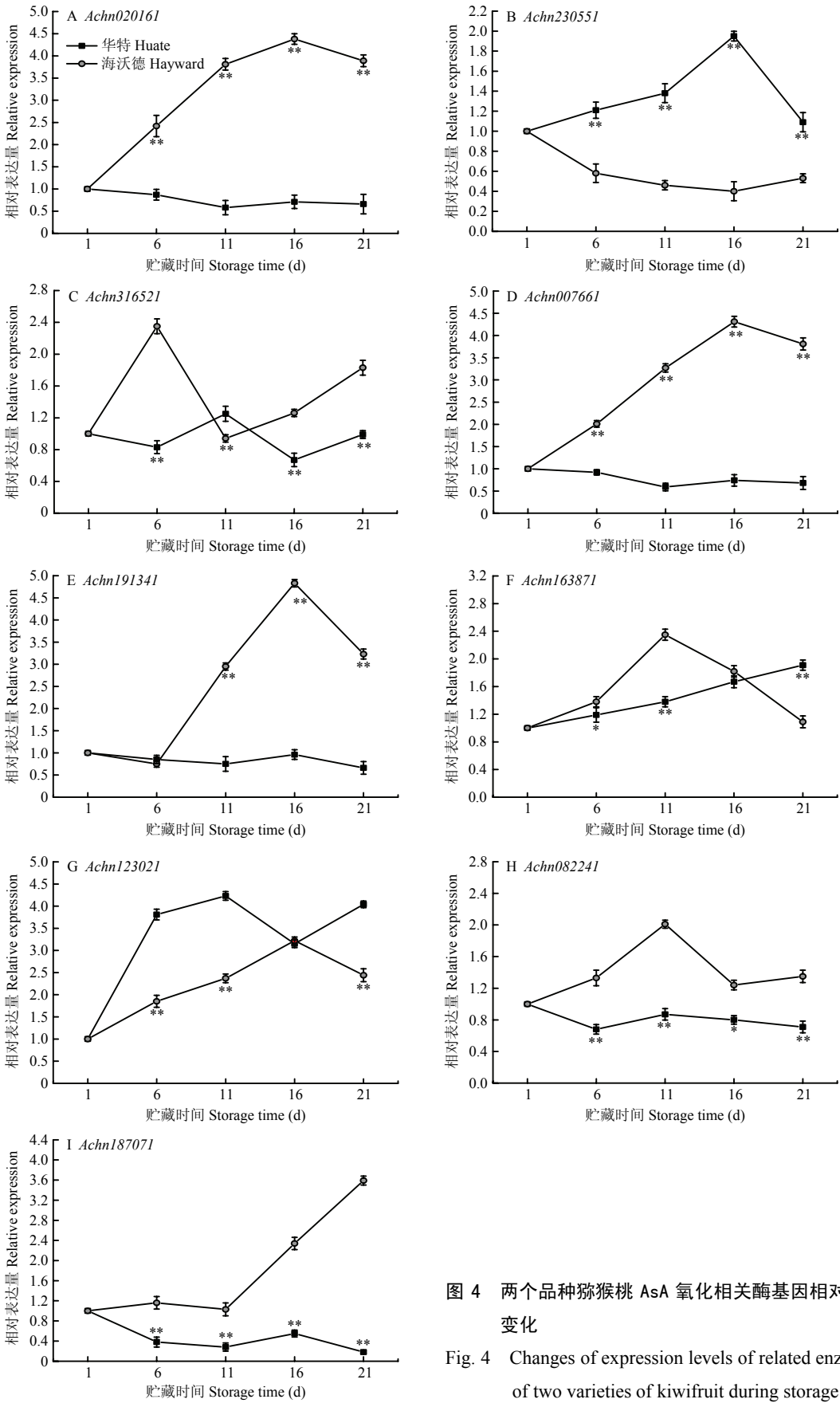


图 4 两个品种猕猴桃 AsA 氧化相关酶基因相对表达量的变化

Fig. 4 Changes of expression levels of related enzyme genes of two varieties of kiwifruit during storage

Achn007661、*Achn191341*、*Achn163871* 是猕猴桃漆酶基因家族中的 3 个基因。由图 4-D 可见, 在猕猴桃整个采后贮藏期内, ‘海沃德’ *Achn007661* 表达量在第 16 天最高, ‘华特’ 的表达量一直明显低于 ‘海沃德’。*Achn191341* 在 ‘海沃德’ 猕猴桃中表达量总体呈上升的趋势, 第 16 天表达量达到峰值且是第 1 天的 5 倍; ‘华特’ 猕猴桃表达量变化趋势不明显, 且第 6 天后明显低于 ‘海沃德’ (图 4-E)。*‘海沃德’* 猕猴桃 *Achn163871* 表达量在第 11 天达到最高; ‘华特’ 猕猴桃其表达量呈持续上升趋势, 且贮藏末期高于 ‘海沃德’ (图 4-F)。

Achn123021、*Achn082241*、*Achn187071* 是猕猴桃 APX 基因家族中的 3 个基因。‘海沃德’ 猕猴桃 *Achn123021* 表达量在第 16 天达到峰值; ‘华特’ 猕猴桃其表达量在第 1—6 天急剧上升, 到贮藏末期相比于第 1 天上升了约 4 倍 (图 4-G)。*‘海沃德’* 中 *Achn082241* 表达量始终高于 ‘华特’, 第 11 天表达量达到峰值; 在 ‘华特’ 中的表达量变化整体差异不明显 (图 4-H)。*‘海沃德’* 猕猴桃中 *Achn187071* 表达量在第 11 天表达量开始急剧上升; ‘华特’ 猕猴桃的表达量在前期稍有下降, 但整体变化趋势不明显 (图 4-I)。

2. 6 猕猴桃 AsA 含量与 AsA 氧化相关酶基因相对表达量的相关性

如表 3 所示, AO 基因家族中, *Achn020161* 表达量与 ‘海沃德’ ‘华特’ 猕猴桃果实中 AsA 含量的变

化具有显著负相关性, 相关系数分别为 0.922、0.920; *Achn191341* 表达量与 ‘海沃德’ 猕猴桃中的 AsA 含量变化正相关, 与 ‘华特’ 没有显著相关性; *Achn316521* 表达量与 ‘海沃德’ ‘华特’ 猕猴桃的 AsA 含量无显著相关性。

漆酶基因家族中, *Achn007661* 表达量与 ‘海沃德’ ‘华特’ 猕猴桃贮藏期 AsA 含量的变化呈显著负相关, 相关系数分别为 0.947、0.950; *Achn191341* 表达量与 ‘海沃德’ 猕猴桃中的 AsA 含量的变化呈负相关, 与 ‘华特’ 没有显著相关性; *Achn163871* 表达量与 ‘海沃德’ ‘华特’ 猕猴桃中 AsA 含量的变化没有显著相关性。

APX 基因家族中, *Achn123021* 表达量与 ‘海沃德’ 猕猴桃中 AsA 的含量变化呈负相关性, 与 ‘华特’ 没有显著相关性; *Achn082241* 表达量与 ‘海沃德’ ‘华特’ 猕猴桃中的 AsA 含量变化无显著相关性; *Achn187071* 表达量与 ‘海沃德’ 猕猴桃中 AsA 含量呈负相关, 与 ‘华特’ 无显著相关性。

3 讨论

3. 1 AsA/DHA 对猕猴桃采后 AsA 氧化的影响

猕猴桃以富含高 AsA 而著名, 但在贮藏后期, 不同品种的猕猴桃果实 AsA 的损失情况有显著差异。

‘华特’ 猕猴桃具有较高的 AsA 含量且在采后贮藏期流失较少^[14]。而 ‘海沃德’ 猕猴桃与 ‘华特’ 相比, AsA 在采后贮藏期损失很大^[18]。DHA 是 AsA 中的一种氧化产物, AsA 很容易在酶的作用下氧化, 同时在脱氢抗坏血酸还原酶的作用下, DHA 还可以转化为 AsA 以维持较高水平。本试验发现, ‘华特’ 猕猴桃 AsA 含量是 ‘海沃德’ 的 8—10 倍, 与原玉林等^[3]的研究结果一致; 造成 AsA 含量差异的主要因素为 AsA 合成和循环再生机制, ‘华特’ 贮藏前期出现 AsA 含量的上升现象, 说明果实中的 AsA 合成和再生的协作速率大于氧化速率。有研究表明, ‘华特’ 贮藏前期 DHAR 活性上升, 后期受到反馈抑制活性下降^[19], 因此, DHAR 以 DHA 为底物会促进果实贮藏前期 AsA 含量的积累; ‘海沃德’ 猕猴桃刚好与其相反, 说明 ‘海沃德’ AsA 氧化速度大于再生合成的速度。‘华特’ 猕猴桃 DHA 含量远远高于 ‘海沃德’, 两者变化趋势一致, DHA 除自身氧化外还参与 AsA 再生循环。由于猕猴桃中 AsA 含量远高于 DHA 含量, 所以, ‘华特’ 和 ‘海沃德’ 的 T-AsA 含量变化趋势与 AsA 基本保持一致, 受 DHA 变化影响很小。AsA/DHA 的

表 3 两个品种猕猴桃 AsA 含量与相关基因表达量的相关系数

Table 3 Relation coefficient among AsA content and genes expression of two varieties of kiwifruit

	海沃德 Hayward	华特 Huate
<i>Achn020161</i>	-0.922*	-0.920*
<i>Achn191341</i>	0.769	0.494
<i>Achn316521</i>	0.02	0.494
<i>Achn007661</i>	-0.947*	-0.950*
<i>Achn191341</i>	-0.852	-0.423
<i>Achn163871</i>	-0.325	0.599
<i>Achn123021</i>	-0.84	0.536
<i>Achn082241</i>	-0.390	0.246
<i>Achn187071</i>	-0.803	-0.517

比值反映的是果实中 AsA 的氧化还原状态^[18], 比值越大, 说明抗氧化能力越高^[20], 越有利于维持果实中 T-AsA 的含量。AsA/DHA 的高比值可以阻止 AsA 的降解, ‘华特’在贮藏期内 AsA 含量整体上升而 DHA 下降, 保持着较高的 AsA 再生能力, AsA 再生酶可能对其后期可以保持较高的抗氧化能力也起到一定作用^[21]。‘华特’猕猴桃和‘海沃德’猕猴桃在贮藏过程中 AsA/DHA 的比值存在显著差异, 较高含量的 DHA 还原以及 AsA/DHA 的高比值对 AsA 的积累起到重要作用。

3.2 3 种酶对猕猴桃采后 AsA 氧化的影响

通过 AsA-GSH 循环, 植物有清除活性氧 (ROS) 的能力, 同时, AsA 会被氧化为单脱氢抗坏血酸 (MDAH), 这种能力在酶的催化下会增强。前人研究表明, 在 AsA-GSH 循环中, AO 在有氧情况下, APX 提供电子供体是 AsA 分解氧化的主要途径, 植物 APX 表达受生物和非生物胁迫以及植物发育期间的调节^[22-24]。漆酶是一种含铜多酚氧化酶^[25], 作为催化剂可清除 ROS, 也可与抗坏血酸、胺类物质反应^[26-27]。本研究发现, AO 活性与两个品种猕猴桃 AsA 含量呈显著负相关性; 漆酶活性与两个品种猕猴桃 AsA 含量呈负相关性, 与笔者课题组前期基于转录组测序分析发现漆酶可能是‘海沃德’采后氧化 AsA 酶的结论一致^[15]。猕猴桃 AO 和漆酶活性在‘华特’采后第 11 天达到最低值, 在‘海沃德’采后第 16 天达到最高值, 而在采后第 11 天‘华特’猕猴桃的 AsA 含量上升到峰值, DHA 的含量接近最低值, 推测这是导致‘华特’猕猴桃 AsA 含量在贮藏后期始终维持较高含量而‘海沃德’AsA 含量呈下降趋势的主要原因。进一步比较 AO 与漆酶的活力, 发现 AO 是漆酶活力的 3—4 倍, 据此推测, AO 是导致两个品种猕猴桃采后氧化的关键酶, 漆酶对猕猴桃采后 AsA 的氧化有一定的作用。而 APX 的活力变化趋势在两个品种之间差异较大, 在采收当天, ‘华特’猕猴桃是‘海沃德’的 2 倍多, 在采后第 7—21 天, ‘华特’始终高于‘海沃德’; 在采后第 1—6 天, ‘华特’APX 活力剧增, 与其采后 1—6 天的 AsA 升高及 DHA 降低的变化吻合, 但采后第 7—21 天, APX 活力变化与 AsA 及 DHA 变化吻合度较低。而‘海沃德’APX 活力与其采后 AsA 含量的相关系数仅为 0.253, 因此, APX 不是两个品种氧化 AsA 的主要酶, 这与钟雨^[28]在‘华特’猕猴桃中的研究结果一致。植物中 AsA-GSH

循环途径需要多个同工酶共同参与^[29], 这 3 种酶对于 ROS 的清除应该都有一定的作用, 但具体如何参与 ASA 的氧化并不清楚, 还需要进一步探究验证。

3.3 相关基因对猕猴桃采后 AsA 氧化的影响

AO 基因家族中, *Achn020161* 在两个品种猕猴桃中的表达变化趋势与其对应的酶活性变化趋势相近, 与其 AsA 含量呈显著负相关, 推测该基因是导致两个品种猕猴桃 AsA 氧化的关键基因之一。*Achn230551*、*Achn316521* 表达量与 AsA 含量无显著相关性, 推断这两个基因可能并不参与调控 AO 氧化 AsA 的过程。

漆酶基因家族的 *Achn007661* 与 *Achn191341* 在‘海沃德’猕猴桃中表达量显著高于‘华特’; ‘华特’猕猴桃 *Achn007661* 与 *Achn191341* 在采后平稳下降, 与其对应品种的漆酶活性变化趋势基本一致, 相关分析表明 *Achn007661* 与 *Achn191341* 与两个品种 AsA 变化分别为极显著相关与负相关, 推测 *Achn007661* 与 *Achn191341* 对氧化 AsA 有一定影响。*Achn163871* 表达量在‘海沃德’猕猴桃中为先上升后下降的趋势, 第 11 天表达量达到最高, 与漆酶活力变化趋势一致; 但在‘华特’猕猴桃中的表达量持续上升, 且贮藏末期高于‘海沃德’, 与漆酶活力变化趋势相反, 表明 *Achn163871* 与两个品种猕猴桃氧化 AsA 无相关性, 也暗示 *Achn163871* 可能存在转录后调控, 其机理有待进一步研究。

APX 基因家族的 *Achn123021* 在‘海沃德’猕猴桃中表达量与 APX 活力的变化趋势一致, 与 AsA 含量呈负相关性; 但在‘华特’中采后第 1—6 天 APX 活力下降一半, 其表达量反而上升, 采后第 11 天, *Achn123021* 表达量是采收当天的 4.5 倍, 与 AsA 含量上升的表型相反。在两个品种中, *Achn082241*、*Achn187071* 表达量变化与 APX 活力变化趋势相近, 但两个基因的表达量在‘海沃德’中显著高于‘华特’, 与‘华特’APX 活性整体高于‘海沃德’的结果相反。其原因可能是由于本研究中 APX 基因家族 *Achn082241*、*Achn187071* 的 CDS 序列来自中华猕猴桃‘红阳’基因组数据库^[17], 而本研究所用的材料是美味猕猴桃‘海沃德’与毛花猕猴桃‘华特’, 与中华猕猴桃‘红阳’存在较大的遗传差异^[30-31], APX 基因编码区的序列也可能存在一定的多态性。另一方面, 较多的研究表明 APX

在植物生长发育和逆境胁迫响应等生理过程中都发挥着非常重要的作用,它催化 H_2O_2 依赖的 L-抗坏血酸发生氧化作用,对 AsA 表现出高度的专一性^[23,32-33]。本研究不论从酶学层面,还是基因层面均表明 APX 与两个品种采后 AsA 氧化相关性低,其原因有待进一步研究。

4 结论

较高含量的脱氢抗坏血酸还原以及 AsA/DHA 的高比值对抗坏血酸(AsA)的积累起重要作用。抗坏血酸氧化酶(AO)是氧化 AsA 的关键酶,漆酶对氧化 AsA 有一定作用,抗坏血酸过氧化物酶(APX)不是主要氧化 AsA 的酶。推测 AO 基因家族中的基因 *Achn020161* 是导致 AO 氧化 AsA 的关键基因,而 *Achn191341* 和 *Achn316521* 则与 AsA 氧化相关性不明显;漆酶基因家族中的基因 *Achn007661* 对 AsA 氧化有一定作用,*Achn191341*、*Achn163871* 与 AsA 的氧化没有显著相关性;APX 基因家族中的 3 个基因 *Achn123021*、*Achn082241*、*Achn187071* 不是氧化 AsA 的关键基因。

References

- [1] 石永春, 杨永银, 薛瑞丽, 刘巧真. 植物中抗坏血酸的生物学功能研究进展. 植物生理学报, 2015, 51(1): 1-8.
SHI Y C, YANG Y Y, XUE R L, LIU Q Z. Research advance of biological function of ascorbic acid in plants. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51(1): 1-8. (in Chinese)
- [2] FOTOPOULOS V, KANELIS A K. Altered apoplastic ascorbate redox state in tobacco plants via ascorbate oxidase overexpression results in delayed dark-induced senescence in detached leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 73: 153-160.
- [3] 原玉林, 同晓蕾, 侯长明, 马峰旺, 李明军. 不同基因型猕猴桃果实中抗坏血酸合成与代谢的差异. 植物生理学报, 2016, 52(12): 1877-1883.
YUAN Y L, TONG X L, HOU C M, MA F W, LI M J. Difference of ascorbic acid synthesis and metabolism in different genotypes of kiwifruit. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(12): 1877-1883. (in Chinese)
- [4] BULLEY S M, RASSAM M, HOSER D, OTTO W, SCHUNEMANN N, WRIGHT M, MACRAE E, GLEAVE A, LAING W. Gene expression studies in kiwifruit and gene over-expression in *Arabidopsis* indicates that GDP-L-galactose guanylttransferase is a major control point of vitamin C biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(3): 765-778.
- [5] 郑俊鸾, 孙艳, 韩寿坤, 张浩, 王益泉. 土壤紧实胁迫对黄瓜抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响. 中国农业科学, 2013, 46(2): 433-440.
ZHENG J Q, SUN Y, HAN S K, ZHANG H, WANG Y Q. Effect of soil compaction stress on ascorbate-gluthione cycle in cucumber plants. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(2): 433-440. (in Chinese)
- [6] 刘永立, 胡海涛, 兰大伟. 维生素 C 的生物合成及其基因调控研究进展. 果树学报, 2006, 23(3): 431-436.
LIU Y L, HU H T, LAN D W. Advance in research on vitamin C biosynthesis and gene engineering. *Journal of Fruit Science*, 2006, 23(3): 431-436. (in Chinese)
- [7] 石永春, 刘卫群. 植物中的抗坏血酸氧化酶. 植物生理学通讯, 2008, 44(1): 151-154.
SHI Y C, LIU W Q. Ascorbate oxidase in plants. *Plant Physiology Communications*, 2008, 44(1): 151-154. (in Chinese)
- [8] 柯笑楠, 胡海超, 黄霞, 贾玉芳. 水稻抗坏血酸氧化酶基因家族生物信息学分析. 分子植物育种, 2019. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20190202.1254.002.html>.
KE X N, HU H C, HUANG X, JIA Y F. Bioinformatics analysis of ascorbic acid oxidase gene family in *Oryza sativa* L. *Molecular Plant Breeding*, 2019. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20190202.1254.002.html>. (in Chinese)
- [9] NOCTOR G, FOYER C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1998, 49(1): 249-279.
- [10] 耿贵工. 沙棘维生素 C 积累与相关酶活性关系研究. 湖北农业科学, 2016, 55(1): 120-123.
GENG G G. Study on the relationship of vitamin C accumulation and related enzyme activity in seabuckthorn. *Hubei Agricultural Sciences*, 2016, 55(1): 120-123. (in Chinese)
- [11] MA T T, SUN X Y, ZHAO J M, YOU Y L, LEI Y S, GAO G T, ZHAN J C. Nutrient compositions and antioxidant capacity of kiwifruit (*Actinidia*) and their relationship with flesh color and commercial value. *Food Chemistry*, 2017, 218: 294-304.
- [12] 孟纯阳, 魏小春, 姚秋菊, 原玉香, 张晓伟. 辣椒维生素 C 生物合成及代谢研究进展. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(6): 2558-2565.

- MENG C Y, WEI X C, YAO Q J, YUAN Y X, ZHANG X W. The research progress on biosynthesis and metabolism of vitamin C in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(6): 2558-2565. (in Chinese)
- [13] 薛敏, 高贵田, 张思远, 魏雪, 耿鹏飞. 气体 ClO_2 对‘华优’猕猴桃采后生理及贮藏品质的影响. *食品科学*, 2015, 36(18): 257-261.
- XUE M, GAO G T, ZHANG S Y, WEI X, GENG P F. Effects of chlorine dioxide gas on post-harvest physiology and storage quality of ‘Huayou’ kiwifruit. *Journal of Shaanxi Normal University (Natural Science Edition)*, 2015, 36(18): 257-261. (in Chinese)
- [14] 张佳佳, 郑小林, 励建荣. 毛花猕猴桃“华特”果实采后生理和品质变化. *食品科学*, 2011, 32(8): 309-312.
- ZHANG J J, ZHENG X L, LI J R. Physiological and quality changes in *Actinidia eriantha* Benth ‘Walter’ fruit during storage at normal temperature. *Food Science*, 2011, 32(8): 309-312. (in Chinese)
- [15] 张晓萍. ‘海沃德’猕猴桃后熟期转录组测序及抗坏血酸降解分析 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2017.
- ZHANG X P. Research on transcriptome sequencing and ascorbic acid degradation analysis of postharvest ‘Hayward’ kiwifruit [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2017. (in Chinese)
- [16] 赵玉梅, 曹建康, 姜微波. 果蔬采后生理生化实验指导. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
- ZHAO Y M, CAO J K, JIANG W B. *Physiological and Biochemical Experiment Guidance for Postharvest Fruits and Vegetables*. Beijing: China Light Industry Press, 2007. (in Chinese)
- [17] HUANG S X, DING J, DENG D J, TANG W, SUN H H, LIU D Y, ZANG L, NIU X L, ZHANG X, MENG M, YU J D, LIU J, HAN Y, SHI W, ZHANG D F, CAO S Q, WEI Z J, CUI Y L, XIA Y H, ZENG H P, *et al.* Draft genome of the kiwifruit *Actinidia chinensis*. *Nature Communications*, 2013, 4(4): 2640.
- [18] 李芳晓, 秦栋, 李曙雷, 占歌, 霍俊伟, 王欢欢, 赵毅, 韩伟, 步鹏志. 黑穗醋栗 AsA 含量及其代谢酶活性差异分析. *南方农业学报*, 2014, 45(7): 1237-1241.
- LI F X, QIN D, LI S L, ZHAN G, HUO J W, WANG H H, ZHAO Y, HAN W, BU P Z. Ascorbic acid content and difference of related enzyme activities in fruit of blackcurrant. *Journal of Southern Agriculture*, 2014, 45(7): 1237-1241. (in Chinese)
- [19] 胡斌. 不同成熟度毛花猕猴桃‘华特’采后果实 AsA 代谢及挥发性物质的差异研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
- HU B. Study on variation of ascorbic acid metabolism and volatile substances of *Actinidia eriantha* cv. ‘White’ among different maturities during storage [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2018. (in Chinese)
- [20] OGAWA K. Glutathione-associated regulation of plant growth and stress responses. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2005, 7(7/8): 973-981.
- [21] 钟雨. 毛花猕猴桃‘华特’采后果实抗坏血酸代谢的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2017.
- ZHONG Y. Study on ascorbic acid metabolism of *Actinidia Eriantha* cv ‘white’ during storage [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2017. (in Chinese)
- [22] 乔枫, 耿贵工, 曾阳, 金兰, 谢惠春. 枸杞抗坏血酸过氧化物酶基因的克隆与表达分析. *中国农业大学学报*, 2019, 24(4): 64-72.
- QIAO F, GENG G G, ZENG Y, JIN L, XIE H C. Molecular cloning and expression patterns of *LcAPX* from *Lycium chinense*. *Journal of China Agricultural University*, 2019, 24(4): 64-72. (in Chinese)
- [23] 李娜, 陆海. 植物抗坏血酸过氧化物酶基因家族研究进展. *成都大学学报(自然科学版)*, 2011, 30(2): 97-101.
- LI N, LU H. Research progress in ascorbate peroxidase gene family in plants. *Journal of Chengdu University (Natural Science Edition)*, 2011, 30(2): 97-101. (in Chinese)
- [24] CAVERZAN A, PASSAIA G, ROSA S B, RIBEIRO C W, LAZZAROTTO F, MARGIS-PINHEIRO M. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*, 2012, 35(4): 1011-1019.
- [25] MAYER A M, STAPLES R C. Laccase: New functions for an old enzyme. *Phytochemistry*, 2002, 60(6): 551-565.
- [26] 刘恋, 杨清. 漆酶的研究进展及其应用. *山东化工*, 2019, 48(3): 60-61.
- LIU L, YANG Q. Research progress and application of Laccase. *Shandong Chemical Industry*, 2019, 48(3): 60-61. (in Chinese)
- [27] HAKULINEN N, KIISKINEN L L, KRUIUS K, SALOHEIMO M, PAANANEN A, KOIVULA A, ROUVINEN J. Crystal structure of a laccase from *Melanocarpus albomyces* with an intact trinuclear copper site. *Nature Structural Biology*, 2002, 9(8): 601-605.
- [28] 钟雨. 毛花猕猴桃‘华特’采后果实抗坏血酸代谢的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2017.
- ZHONG Y. Study on ascorbic acid metabolism of *Actinidia Eriantha* cv ‘White’ during storage [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2017. (in Chinese)

- [29] CHEW O, WHELAN J, MILLAR A H. Molecular definition of the ascorbate-glutathione cycle in *Arabidopsis mitochondria* reveals dual targeting of antioxidant defenses in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(47): 46869-46867.
- [30] 谢玥, 夏惠, 梁东, 王永志, 刘娟, 庄启国, 李明章. 25 个猕猴桃材料遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱的建立. *分子植物育种*, 2018, 16(15): 5001-5007.
- XIE Y, XIA H, LIANG D, WANG Y Z, LIU J, ZHUANG Q G, LI M Z. Genetic diversity analysis of 25 *Actinidia* materials and the establishment of DNA fingerprint. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(15): 5001-5007. (in Chinese)
- [31] 张慧, 张世鑫, 吴绍华, 田维民, 彭小列, 刘世彪. 猕猴桃属 33 份种质资源的 AFLP 遗传多样性分析. *生物学杂志*, 2018, 35(2): 29-33.
- ZHANG H, ZHANG S X, WU S H, TIAN W M, PENG X L, LIU S B. Genetic diversity of 33 kiwifruit germplasms based on AFLP markers. *Journal of Biology*, 2018, 35(2): 29-33. (in Chinese)
- [32] 李泽琴, 李静晓, 张根发. 植物抗坏血酸过氧化物酶的表达调控以及对非生物胁迫的耐受作用. *遗传*, 2013, 35(1): 45-54.
- LI Z Q, LI J X, ZHANG G F. Expression regulation of plant ascorbate peroxidase and its tolerance to abiotic stresses. *Hereditas*, 2013, 35(1): 45-54. (in Chinese)
- [33] 孙卫红, 王伟青, 孟庆伟. 植物抗坏血酸过氧化物酶的作用机制、酶学及分子特性. *植物生理学通讯*, 2005, 41(2): 143-147.
- SUN W H, WANG W Q, MENG Q W. Functional mechanism and enzymatic and molecular characteristic of ascorbate peroxidase in plants. *Plant Physiology Journal*, 2005, 41 (2): 143-147. (in Chinese)

(责任编辑 赵伶俐)