



网络出版日期:2019-12-19

doi: 10.7606/j.issn.1004-1389.2019.12.014

网络出版地址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20191217.2340.018.html>

2种中国樱桃果实有机酸积累及代谢相关酶活性的研究

李 航,陶海青,陈益香,龚成宇,杨 科,龚荣高

(四川农业大学 园艺学院,成都 611130)

摘要 研究‘黑樱桃’和‘红樱桃’2种中国樱桃果实生长发育过程中有机酸积累及相关代谢酶活性,探究中国樱桃发育过程中二者间的关系,为国内樱桃优质生产提供理论依据。以汉源县当地种植的10 a生‘黑樱桃’和‘红樱桃’为试验材料,测定发育时期内果实有机酸组分的质量分数以及酸代谢相关酶的活性。结果表明,2种中国樱桃果实中苹果酸质量分数最高,并呈先升高后降低的变化趋势,成熟时苹果酸质量分数占总酸质量分数85%以上,其他有机酸质量分数很低,且‘红樱桃’果实总酸质量分数高于‘黑樱桃’;苹果酸脱氢酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性与苹果酸质量分数变化趋势相近,并呈显著正相关;苹果酸酶活性在果实发育后期迅速升高,与苹果酸质量分数组负相关;柠檬酸合成酶活性与柠檬酸质量分数组显著正相关。2种中国樱桃果实有机酸积累以苹果酸为主,‘黑樱桃’果实有机酸质量分数更低,有着更好的风味,苹果酸脱氢酶、苹果酸酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶是2种中国樱桃果实苹果酸积累代谢的关键酶。

关键词 中国樱桃;有机酸;酸代谢酶

中图分类号 S662.5

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2019)12-2019-08

中国樱桃(*Cerasus pseudocerasus* Lindl.)隶属蔷薇科李亚科樱属,起源于中国,有着3 000余年的栽培历史^[1],是世界四大樱桃栽培种之一^[2],果实营养丰富,富含磷、铁、维生素C和胡萝卜素等^[3-4],一直深受消费者的喜爱。已有的研究表明,果实中的有机酸种类、质量分数及其构成比例和形成动态是果实风味形成的重要基础^[5],果实中有机酸组分很多,但大多数果实通常以1种或2种有机酸为主,其他仅以少量或微量存在。有机酸质量分数与果实的酸度有显著的相关性,不仅对平衡果实的风味非常重要^[6],而且在果实的光合作用,呼吸作用,以及成酚类、酯类和氨基酸的合成中发挥重要作用^[7]。果实中有机酸的合成代谢途径受代谢相关酶活性的调控(代谢途径见图1)^[8-11],其中调控苹果酸代谢的酶主要包括苹果酸脱氢酶(NAD-MDH)、苹果酸酶(NADP-ME)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)。PEPC主要催化PEP生成OAA以及无机磷^[12],NAD-MDH能够将OAA氧化成苹果酸,从而快速降低OAA的质量分数^[13];NADP-ME主要催

化苹果酸生成丙酮酸,对苹果酸的降解起到催化作用,在成熟苹果果实里的NADP-ME活性的增加能够减少有机酸的质量分数^[14];而柠檬酸合成酶(CS)主要催化OAA和Ac-CoA缩合产生柠檬酸。中国樱桃果实具有很高的食用价值,但目前果实有机酸质量分数偏高是中国樱桃产业的问题之一,研究中国樱桃果实有机酸代谢对于中国樱桃产业的发展有重大的理论和实践意义,而且对于中国樱桃果实中有机酸代谢机制的研究也相对较少。因此,本试验以‘黑樱桃’和‘红樱桃’2种中国樱桃为材料,测定中国樱桃果实发育过程中有机酸组分及质量分数、相关酶活性,探讨中国樱桃果实发育过程中有机酸积累的机理,为进一步研究果实有机酸代谢提供理论依据,同时为中国樱桃生产栽培、品种选育、提高中国樱桃果实品质提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

取样地位于四川省雅安市汉源县,属亚热带

收稿日期:2019-03-21 修回日期:2019-05-10

基金项目:国家重点研发项目(2017YFC0505104)。

第一作者:李 航,男,硕士研究生,从事果树栽培生理研究。E-mail:1260594557@qq.com

通信作者:龚荣高,男,博士,教授,博士生导师,主要从事果树栽培生理研究。E-mail:63830947@qq.com

季风性气候,冬暖夏凉,四季分明。年平均气温17.9℃,无霜期300 d,年平均日照时间1475.8 h,年活动积温5844.7℃,年均降雨量741.8 mm。

以汉源县当地栽培的‘黑樱桃’和‘红樱桃’为

试材,每种试材选择树势中庸、生长健壮、长势相近的10 a生植株5株作为供试植株,采用常规管理。盛花期开始,从每株供试植株中选择大小基本一致,具有代表性的花序挂牌标记。

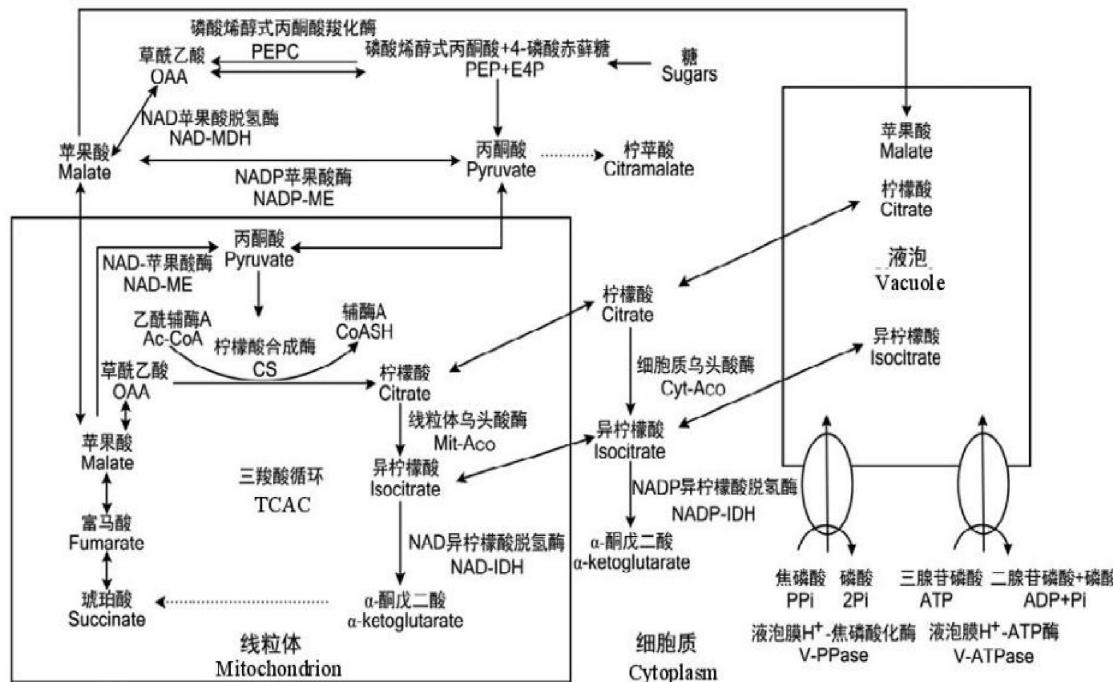


图1 果实细胞有机酸代谢途径
Fig. 1 Organic acid metabolism in fruit cell

1.2 取样方法

在盛花后6、12、18、24、30、36、42 d取样。在10株供试植株树冠外围1~2 m处取样,每株选择无病虫害、中等大小的果实40个,用冰盒带回实验室,用液氮速冻分装后于-80℃超低温冰箱中保存。

1.3 果实生长发育动态测定

果实时单果质量用万分之一天平测定,纵横径用数显游标卡尺测定。

1.4 有机酸质量分数测定

苹果酸、酒石酸、奎宁酸和柠檬酸的质量分数采用高效液相色谱法(HPLC)测定,提取和测定方法参考马倩倩等^[15]和张丽丽等^[16]的方法并略加改进。使用Agilent高效液相色谱仪(Agilent 1260 II)测定,色谱柱为C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为0.04 mol·L⁻¹ KH₂PO₄,柱温为30℃,紫外检测器,检测波长210 nm,流速0.5 mL·min⁻¹,进样量10 μL。

1.5 蔗糖代谢相关酶活性测定

酶液的制备,苹果酸脱氢酶(NAD-MDH)、

苹果酸酶(NAD-ME)、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)和柠檬酸合成酶(CS)活性的测定参考龚荣高等^[17]和李甲明等^[18]的方法,并略加改进。

1.6 数据处理

采用Microsoft Excel 2010和SPSS 19.0软件进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 2种中国樱桃单果质量变化

由图2可见,2种中国樱桃果实发育持续时间在42 d左右,2种樱桃果实发育呈慢—快的生长趋势,在花后6~24 d(幼果期)单果质量增长速率较慢;花后30 d后果实进入转色膨大期,果实单果质量迅速增加,推测此时期为2种中国樱桃果实发育的关键时期;整个发育过程中‘红樱桃’单果质量明显高于‘黑樱桃’,成熟时‘黑樱桃’单果质量为2.72±0.11 g,‘红樱桃’单果质量为3.74±0.17 g。

2.2 2种中国樱桃纵横径变化

由图3可见,在果实发育前期(花后6~

24 d),中国樱桃果实纵径大于横径,纵径横径缓慢上升;从花后30 d开始果实横径迅速上升,并明显高于横径,横径变化较为平稳。成熟时‘黑樱桃’纵径 1.70 ± 0.085 cm,横径 1.87 ± 0.086 cm,果形指数为0.92;‘红樱桃’纵径 1.66 ± 0.084 cm,横径 2.02 ± 0.089 cm,果形指数为0.82。果实成熟时,‘黑樱桃’果实指数高于‘红樱桃’,使得‘红樱桃’比‘黑樱桃’果形更偏扁圆形,也与成熟时‘红樱桃’果实单果质量大于‘黑樱桃’相一致。

2.3 2种中国樱桃果实有机酸质量分数变化

由图4可见,在整个发育时期,2种中国樱桃成熟果实中有机酸以苹果酸为主,苹果酸和酒石酸质量分数变化趋势和总酸质量分数变化相近,总体呈先上升后降低的变化趋势,花后13 d开始,果实苹果酸和总酸质量分数开始迅速上升,在花后30 d质量分数上升到最高,花后30 d开始逐渐降低。发育期内,‘黑樱桃’奎宁酸质量分数变

化不大,‘红樱桃’奎宁酸质量分数从花后30 d开始呈降低的趋势;2种中国樱桃果实柠檬酸质量分数呈升高—降低—升高—降低的变化趋势,在花后24 d柠檬酸质量分数最低,花后30 d质量分数最高,花后30 d开始降低。

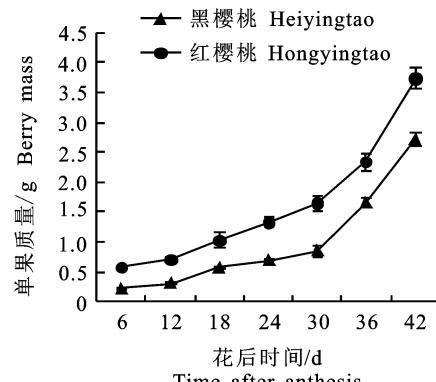


图2 樱桃果实发育过程单果质量变化

Fig. 2 Changes of fruit mass during cherry fruit development

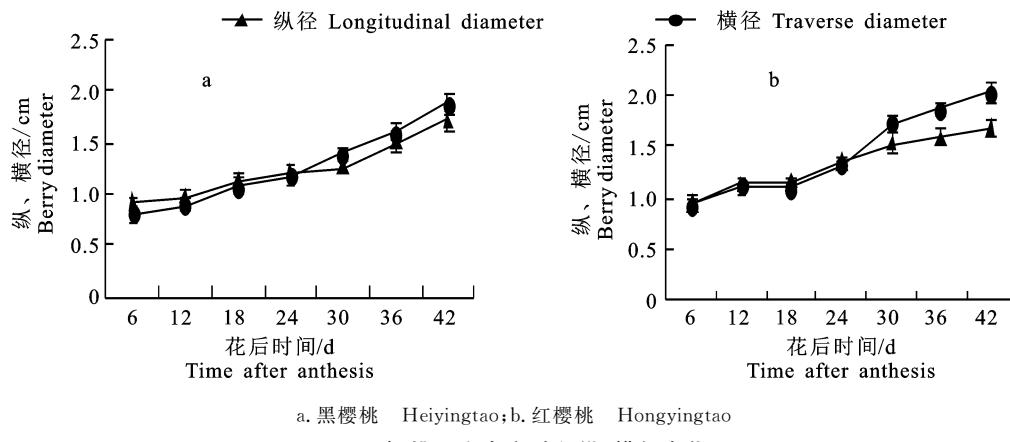


图3 樱桃果实发育过程纵、横径变化

Fig. 3 Changes of longitudinal and transverse diameters during cherry fruit development

花后42 d果实成熟时‘黑樱桃’苹果酸质量分数为 4.62 ± 0.15 mg·g⁻¹,占总酸质量分数的89%;‘红樱桃’苹果酸质量分数为 5.50 ± 0.11 mg·g⁻¹,占总酸质量分数的85%。奎宁酸和柠檬酸质量分数相近,‘黑樱桃’奎宁酸和柠檬酸占总酸质量分数的5%和4%,‘红樱桃’奎宁酸和柠檬酸占总酸质量分数的9%和4%;酒石酸质量分数最低,占总酸质量分数的1%。‘红樱桃’成熟果实中各有机酸质量分数均高于‘黑樱桃’。

2.4 2种中国樱桃果实中有机酸代谢相关酶活性变化

2.4.1 苹果酸脱氢酶活性 由图5可以看出,2种中国樱桃果实苹果酸脱氢酶(NAD-MDH)活性总体呈先升高再降低趋势,与苹果酸变化趋势

相近,在花后12~30 d NAD-MDH活性呈上升趋势,在花后30 d活性达到最高,‘黑樱桃’为 12.39 ± 0.62 U·g⁻¹·min⁻¹,高于‘红樱桃’的 11.39 ± 0.41 U·g⁻¹·min⁻¹。花后30 d后NAD-MDH活性迅速下降,成熟时‘黑樱桃’果实中NAD-MDH的活性最低,为 3.85 ± 0.21 U·g⁻¹·min⁻¹,‘红樱桃’为 4.77 ± 0.55 U·g⁻¹·min⁻¹,‘红樱桃’果实中NAD-MDH活性高于‘黑樱桃’。两者相比较而言,花后12 d前‘红樱桃’NAD-MDH活性有小幅度降低;‘黑樱桃’NAD-MDH活性在花后12~30 d期间高于‘红樱桃’,花后30 d后,‘黑樱桃’该酶降低幅度大于‘红樱桃’,‘红樱桃’该酶活性更高。

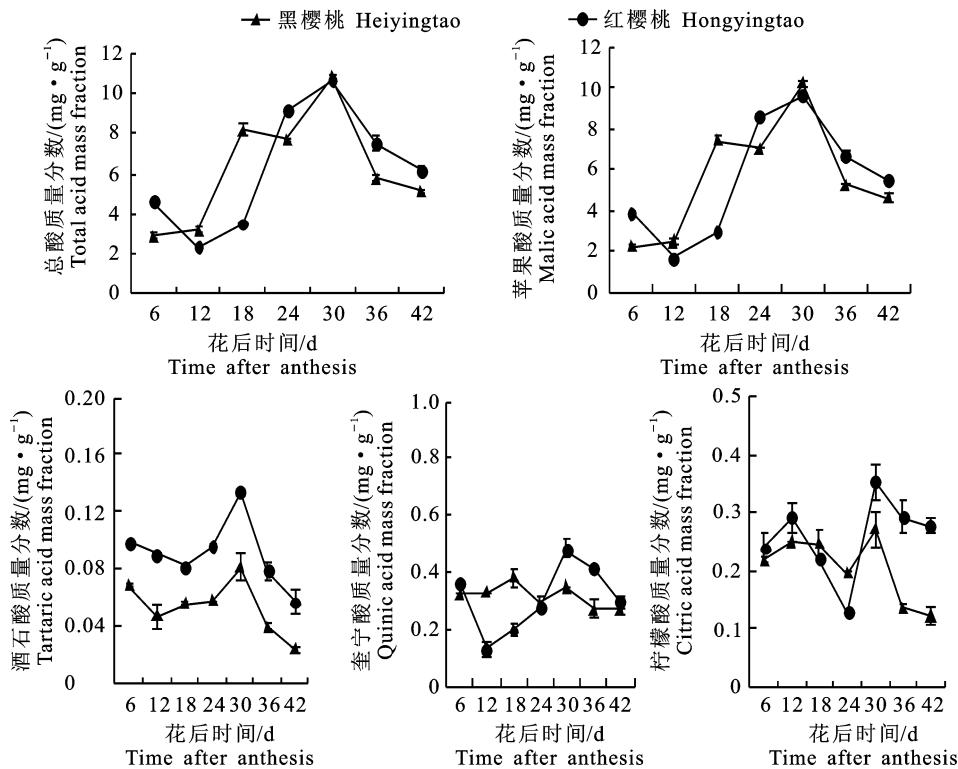


图 4 樱桃果实发育过程酸组份质量分数变化

Fig. 4 Changes in acid mass fraction during the development of cherry fruit

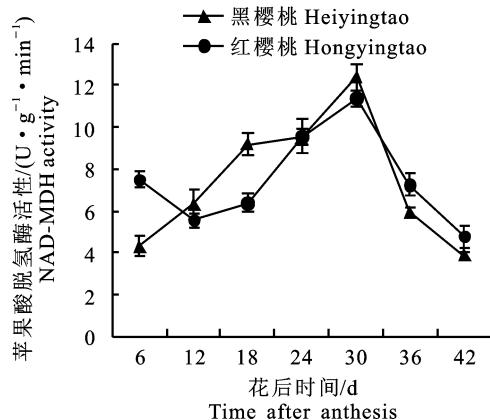


图 5 樱桃果实发育过程苹果酸脱氢酶活性变化

Fig. 5 Changes in NAD-MDH activity during the development of cherry fruit

2.4.2 苹果酸酶活性 由图 6 可以看出,2 种樱桃果实发育过程中苹果酸酶(NADP-ME)活性总体呈先下降再上升的趋势;花后 30 d 前 NADP-ME 活性持续下降且变化较为平稳,在花后 30 d 下降到最低值,‘黑樱桃’最低为 0.04 ± 0.02 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,‘红樱桃’最低为 0.09 ± 0.05 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$;花后 30 d 后,2 种樱桃 NADP-ME 活性迅速上升,成熟时该酶活性到达最高,‘黑樱桃’最高为 1.12 ± 0.07 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,

‘红樱桃’最高为 0.78 ± 0.05 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。两者相比较,花后 24 d 前 NADP-ME 活性变化趋势相反,花后 24 d 后变化趋势相同,从花后 30 d 开始,‘黑樱桃’NADP-ME 活性一直高于‘红樱桃’。

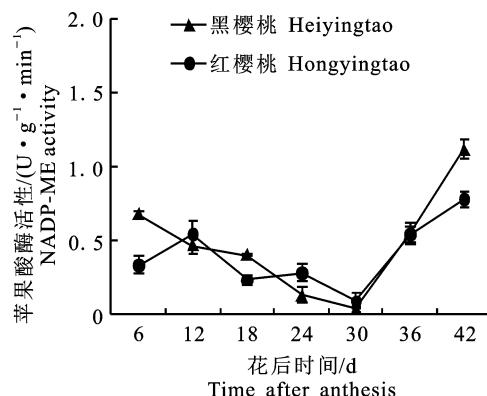


图 6 樱桃果实发育过程苹果酸酶活性变化

Fig. 6 Changes in NADP-ME activity during the development of cherry fruit

2.4.3 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性 由图 7 可以看出,2 种樱桃果实磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)活性总体呈先升高再降低趋势,在花后 24 d 前 PEPC 活性上升且变化平稳,花后 24~30 d 迅速上升并到达峰值,‘黑樱桃’最高为 0.96

$\pm 0.03 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, ‘红樱桃’为 $0.99 \pm 0.05 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。果实发育后期(花后 30~42 d), 2 种樱桃果实 PEPC 活性迅速下降, 果实成熟时降至最低, ‘黑樱桃’最低为 $0.32 \pm 0.05 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, ‘红樱桃’为 $0.31 \pm 0.04 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。2 种樱桃相比较, ‘黑樱桃’果实 PEPC 活性在整个发育期内都高于‘红樱桃’。

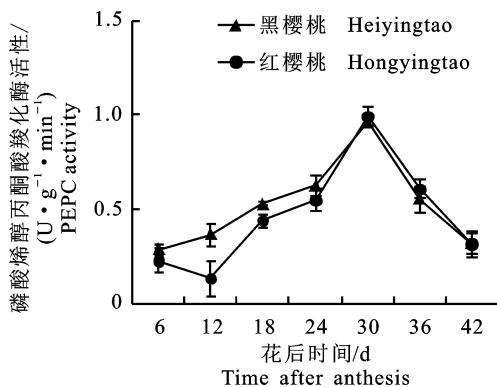


图 7 樱桃果实发育过程磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性变化

Fig. 7 Changes in PEPC activity during the development of cherry fruit

2.4.4 柠檬酸合成酶活性 图 8 显示, ‘黑樱桃’果实 CS 活性整体呈下降趋势, ‘红樱桃’CS 活性整体呈上升趋势; 2 种樱桃果实 CS 活性在发育前期(花后 6~18 d)变化平稳, 花后 24 d CS 活性迅速降低后, 在花后 30 d 迅速上升至峰值, ‘黑樱桃’最高为 $0.18 \pm 0.004 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, ‘红樱桃’为 $0.21 \pm 0.01 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。果实发育后期(花后 30~42 d), 2 种樱桃 CS 活性迅速下降至果实成熟, 成熟时 ‘黑樱桃’ 果实 CS 活性为 $0.10 \pm 0.01 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, ‘红樱桃’ 为 $0.16 \pm 0.002 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。两者相比较, 从花后 12 d 开始, ‘红樱桃’CS 活性一直高于‘黑樱桃’。

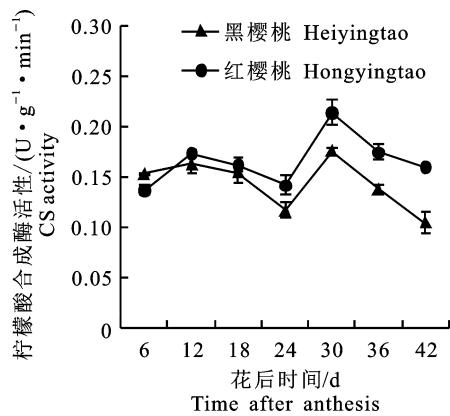


图 8 樱桃果实发育过程柠檬酸合成酶活性变化

Fig. 8 Changes in citrate synthetase (CS) activity during the development of cherry fruit

2.5 中国樱桃果实中酸质量分数与相关酶活性相关性

由表 1 可以看出, 在果实发育期内, ‘黑樱桃’果实苹果酸和总酸质量分数也与苹果酸脱氢酶 (NAD-MDH) 活性呈极显著正相关 ($R^2 = 0.886^{**}$, $R^2 = 0.892^{**}$), 与苹果酸酶 (NADP-ME) 和柠檬酸合成酶 (CS) 活性呈负相关, 苹果酸、酒石酸和总酸质量分数与磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 活性呈极显著正相关 ($R^2 = 0.918^{**}$, $R^2 = 0.907^{**}$, $R^2 = 0.914^{**}$), 酒石酸质量分数与苹果酸酶 (NADP-ME) 活性呈极显著负相关 ($R^2 = -0.886^{**}$); ‘红樱桃’果实苹果酸和总酸质量分数与苹果酸脱氢酶 (NAD-MDH) 活性呈显著正相关 ($R^2 = 0.801^*$, $R^2 = 0.788^*$), 与磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 活性呈显著正相关 ($R^2 = 0.855^*$, $R^2 = 0.855^*$), 与苹果酸酶 (NADP-ME) 活性呈负相关, 柠檬酸质量分数与柠檬酸合成酶 (CS) 活性呈正相关。由此可知, NAD-MDH、PEPC 在樱桃果实有机酸积累过程中起到关键作用。

表 1 中国樱桃果实有机酸质量分数与代谢相关酶的相关性分析

Table 1 Correlation analysis between organic acid mass fraction and metabolic related enzymes in Chinese cherry fruit

酶活性 Enzyme activity	苹果酸 Malic acid		酒石酸 Tartaric acid		奎宁酸 Quinic acid		柠檬酸 Citric acid		总酸 Total scid	
	黑樱桃 Heiyngtao	红樱桃 Hongyingtao	黑樱桃 Heiyngtao	红樱桃 Hongyingtao	黑樱桃 Heiyngtao	红樱桃 Hongyingtao	黑樱桃 Heiyngtao	红樱桃 Hongyingtao	黑樱桃 Heiyngtao	红樱桃 Hongyingtao
NAD-MDH	0.886 ^{**}	0.801 [*]	0.386	0.607	0.542	0.282	0.636	0.021	0.892 ^{**}	0.788 [*]
NADP-ME	-0.643	-0.369	-0.886 ^{**}	-0.754	-0.478	0.061	-0.680	0.111	-0.649	-0.348
PEPC	0.918 ^{**}	0.855 [*]	0.907 ^{**}	0.205	0.287	0.469	0.406	0.300	0.914 ^{**}	0.855 [*]
CS	-0.041	0.366	0.427	-0.014	0.754	0.334	0.802 [*]	0.809 [*]	-0.028	0.385

注: * * 代表极显著性相关($P < 0.01$); * 代表显著性相关($P < 0.05$)。

Note: * * means highly significant correlation($P < 0.01$); * means significant correlation ($P < 0.05$).

3 讨论

许多果实中主要有机酸在果实发育过程中呈现前期上升后期下降的变化趋势^[19],如砂梨^[20]、石榴^[21]和杏^[22]等。本试验中,2种中国樱桃果实有机酸积累以苹果酸为主,成熟时果实中苹果酸质量分数占总酸质量分数85%以上,而其他有机酸质量分数很低,属于苹果酸型果实,与甜樱桃^[23]、苹果^[24]和枇杷^[25]上的研究结果相似。成熟时‘黑樱桃’果实较低的有机酸质量分数决定了其风味相对于‘红樱桃’的优势。

虽然有机酸质量分数过高会导致果实风味变差,但在果实生长发育中占据重要作用,有机酸的积累受到有机酸代谢相关酶调控。本试验中,NAD-MDH和PEPC活性与苹果酸质量分数变化趋势大致相同,呈显著正相关,2种中国樱桃苹果酸积累的差异主要与2种酶活性高低有关。樱桃果实中NADP-ME活性与苹果酸质量分数变化趋势相反,呈负相关,2种中国樱桃果实进入转色期后苹果酸质量分数下降与NADP-ME活性迅速升高有关,果实成熟时,NADP-ME活性升高使得苹果酸开始分解,造成苹果酸质量分数下降,而2种中国樱桃果实发育后期NADP-ME活性的差异也是导致成熟时苹果酸质量分数差异的原因,与在桃、果梅和苹果等果实中NAD-MDH和PEPC调控苹果酸的合成,NADP-ME调控苹果酸分解的结果相一致^[23-25]。本试验中,2种中国樱桃果实中CS活性较低,更多的OAA在NAD-MDH作用下合成苹果酸,导致柠檬酸在果实中质量分数低,但相关性分析表明2种樱桃果实中CS活性都和柠檬酸显著相关,CS是2种中国樱桃调控柠檬酸合成的关键酶,与郭润姿等^[26]在苹果酸积累型果实黄冠梨中发现柠檬酸的积累与CS活性呈极显著正相关的结果相似。在2种中国樱桃果实发育的不同时期,果实有机酸积累和酸代谢酶的活性均不相同,有机酸的积累可能是多种酸代谢酶相互作用的结果,并通过影响果实内有机酸的积累,进而影响果实的风味,决定果实的品质。

4 结论

‘黑樱桃’和‘红樱桃’2种中国樱桃果实有机酸以苹果酸,柠檬酸和奎宁酸为主,其中苹果酸质量分数远高于其他有机酸,在发育期内呈先升高

后降低的变化趋势,成熟时‘黑樱桃’果实有机酸质量分数低于‘红樱桃’。花后30 d进入转色期为2种中国樱桃果实发育的关键时期,进入转色期后果实有机酸质量分数开始迅速降低。NAD-MDH、PEPC和NADP-ME是2种中国樱桃苹果酸代谢的关键酶,果实中有机酸积累不仅是各种酸代谢酶共同调控、相互作用影响有机酸的组分和质量分数,还可能与其他因素有关。

参考文献 Reference:

- [1] 陈涛,王小蓉,罗华,等.9个野生中国樱桃群体叶绿体DNA *trnQ-rps16* 序列变异及其遗传结构分析[J].遗传,2012,34(11):1475-1483.
CHEN T, WANG X R, LUO H, et al. Chloroplast DNA *trnQ-rps16* variation and genetic structure of nine wild Chinese cherry (*Cerasus pseudocerasus* Lindl.) populations [J]. *Hereditas*, 2012, 34(11): 1475-1483.
- [2] 何文,张静,黄智林,等.基于ITS序列对栽培中国樱桃遗传多样性及其群体遗传结构的分析[J].西北植物学报,2014,34(3):463-472.
HE W, ZHANG J, HUANG ZH L, et al. Genetic diversity and population genetic structure among local Chinese cherry varieties [*Cerasus pseudocerasus* (Lindl.) G. Don] based on ITS sequence [J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalis Sinica*, 2014, 34(3): 463-472.
- [3] 贾海慧,张小燕,陈学森,等.甜樱桃和中国樱桃果实在性状的比较[J].山东农业大学学报(自然科学版),2007,38(2):193-195.
JIA H H, ZHANG X Y, CHEN X S, et al. Survey of partial physiological index of cherry different cultivars [J]. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2007, 38(2): 193-195.
- [4] 董玉琛,刘旭.中国作物及其野生近缘植物(果树卷)[M].北京:中国农业出版社,2008:32-39.
DONG Y CH, LIU X. Chinese Crops and Their Wild Relatives (Fruit Tree Volume) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2008: 32-39.
- [5] 梁俊,郭燕,刘玉莲,等.不同品种苹果果实中糖酸组成与含量分析[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2011,39(10):163-170.
LIANG J, GUO Y, LIU Y L, et al. Analysis of contents and constituents of sugar and organic acid in different apple cultivars [J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2011, 39(10): 163-170.
- [6] PRIECINA L, KARKLINA D. Composition of major organic acids in vegetables and spices[J]. *Paper Presented At the*, 2015(3):3447-3454.
- [7] 陈发兴,刘星辉,陈立松.果实有机酸代谢研究进展[J].果树学报,2005,22(5):526-531.
CHEN F X, LIU X H, CHEN L S, et al. Advances in re-

- search on organic acid metabolism in fruits[J]. *Journal of Fruit Science*, 2005, 22(5): 526-531.
- [8] 张燕子. 不同苹果糖酸组成及苹果酸转运体功能研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- ZHANG Y Z. Carbohydrates and organic acids composition of different apple genotypes & the role of malate transporter[D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2010.
- [9] 罗安才, 杨晓红, 邓英毅, 等. 柑橘果实发育过程中有机酸含量及相关代谢酶活性的变化[J]. 中国农业科学, 2003, 36(8): 941-944.
- LUO A C, YANG X H, DENG Y Y, et al. Organic acid concentrations and the relative enzymatic changes during the development of citrus fruits[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(8): 941-944.
- [10] ROONGRUANGSRI W, RATTANAPANONE N, LEK-SAWASDI N, et al. Changes in organic acid contents and related metabolic enzyme activities at different stages of growth of two tangerine cultivars[J]. *Journal of Agricultural Science*, 2012, 4(12): 325-326.
- [11] 龚荣高, 吕秀兰, 张光伦, 等. 不同脐橙品种果实有机酸代谢相关酶的研究[J]. 四川农业大学学报, 2011, 29(4): 499-502.
- GONG R G, LÜ X L, ZHANG G L, et al. Enzymes related to organic acid-metabolizing in navel orange with different varieties[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2011, 29(4): 499-502.
- [12] DIAKOU P, SVANELLA L, RAYMOND P, et al. Phosphoenolpyruvate carboxylase during grape berry development: protein level, enzyme activity and regulation [J]. *Australian Journal of Plant Physiology*, 2000, 27(3): 221-229.
- HADI-TAKOVI V, VULETI M, MARKOVI K, et al. Cell wall-associated malate dehydrogenase activity from maize roots[J]. *Plant Science an International Journal of Experimental Plant Biology*, 2011, 181(4): 465-470.
- [14] 姚玉新, 李 明, 由春香, 等. 苹果果实中苹果酸代谢关键酶与苹果酸和可溶性糖积累的关系[J]. 园艺学报, 2016, 37(1): 1-8.
- YAO Y X, LI M, YOU CH X, et al. Relationship between malic acid metabolism-related key enzymes and accumulation of malic acid as well as the soluble sugars in apple fruit [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 37(1): 1-8.
- [15] 马倩倩, 蒲小秋, 王 德, 等. 枣果实发育过程中有机酸质量分数及相关代谢酶活性的变化[J]. 西北农业学报, 2017, 26(12): 1821-1827.
- MA Q Q, PU X Q, WANG D, et al. Changes in organic acid concentration and acid-metabolising enzymatic activities during development of jujube fruits[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2017, 26(12): 1821-1827.
- [16] 张丽丽, 刘威生, 刘有春, 等. 高效液相色谱法测定5个杏品种的糖和酸[J]. 果树学报, 2010(1): 119-123.
- ZHANG L L, LIU W SH, LIU Y CH, et al. Measurement of sugars, organic acids in 5 apricot cultivars by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Fruit Science*, 2010, 27(1): 119-123.
- [17] 龚荣高, 吕秀兰, 张光伦, 等. 罗伯逊脐橙在不同生境下果实有机酸代谢相关酶的研究[J]. 果树学报, 2006, 23(6): 805-808.
- GONG R G, LÜ X L, ZHANG G L, et al. Study on the organic acid-metabolizing enzymes in Robertson Navel orange fruit collected from different habitats[J]. *Journal of Fruit Science*, 2006, 23(6): 805-808.
- [18] 李甲明, 杨志军, 张绍铃, 等. 不同梨品种果实有机酸含量变化与相关酶活性的研究[J]. 西北植物学报, 2013, 33(10): 2024-2030.
- LI J M, YANG ZH J, ZHANG SH L, et al. Change of organic acid contents and related enzyme activities in different pear cultivars[J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalis Sinica*, 2013, 33(10): 2024-2030.
- [19] 章英才, 陈亚萍, 景红霞, 等. ‘灵武长枣’果实糖积累与蔗糖代谢相关酶的关系[J]. 果树学报, 2014, 31(2): 250-257.
- ZHANG Y C, CHEN Y P, JING H X, et al. Relation between sugar accumulation and sucrose-metabolizing enzymes in fruit of ‘Lingwuchangzao’ (*Zizuphusjujuba* Mill.)[J]. *Journal of Fruit Science*, 2014, 31(2): 250-257.
- [20] 霍月青, 胡红菊, 彭抒昂, 等. 砂梨品种资源有机酸含量及发育期变化[J]. 中国农业科学, 2009, 42(1): 216-223.
- HUO Y Q, HU H J, PENG SH A, et al. Contents and changes of organic acid in sand pears from different germplasm resources [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(1): 216-223.
- [21] 李雪梅. 砂梨果实有机酸含量及代谢相关酶活性动态变化研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- LI X M. Dynamic changes of organic acid content and metabolism-related enzyme activity in sand pear fruit [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008.
- [22] 陈美霞, 陈学森, 慈志娟, 等. 杏果实糖酸组成及其不同发育阶段的变化[J]. 园艺学报, 2006, 33(4): 805-808.
- CHEN M X, CHEN X S, CI ZH J, et al. Changes of sugar and acid constituents in apricot during fruit development [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(4): 805-808.
- [23] 魏国芹, 孙玉刚, 孙 杨, 等. 甜樱桃果实发育过程中糖酸含量的变化[J]. 果树学报, 2014(s1): 103-109.
- WEI G Q, SUN Y G, SUN Y, et al. Changes of sugar and acid constituents in sweet cherry during fruit development [J]. *Journal of Fruit Science*, 2014(s1): 103-109.
- [24] 刘玉莲, 车 飞, 王 海, 等. 苹果果实中糖、酸和花青素的组分及含量特征分析[J]. 西北林学院学报, 2016(6): 236-242.
- LIU Y L, CHE F, WANG H, et al. Characteristics of the components and contents of soluble sugars, organic acids

- and anthocyanins in apple fruit[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2016(6):236-242.
- [25] SHAW P E, WILSON C W. Determination of organic acids and sugars in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by high-pressure liquid chromatography. [J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2010, 32(12):1242-1246.
- [26] 郭润姿, 郭文嵒, 李兴元, 等. 黄冠梨果实发育过程中有机酸含量及相关代谢酶活性的变化[J]. 江苏农业学报, 2013, 29(1):157-161.
- GUO R Z, GUO W L, LI X Y, et al. Changes of organic acid contents and relative enzyme activities during the development of Huangguan pear fruit[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 29(1):157-161.

Evaluation of Organic Acid Accumulation and Metabolism Related Enzymes Activities in Two Chinese Cherry Fruits

LI Hang, TAO Haiqing, CHEN Yixiang, GONG Chengyu,
YANG Ke and GONG Ronggao

(College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract The research is to investigate the organic acid accumulation and related metabolic enzyme activities during the development of ‘Heiyingtao’ and ‘Hongyingtao’, and to explore their relationship during the development of Chinese cherry, providing a theoretical basis to the quality production of Chinese cherries. The 10-year-old ‘Heiyingtao’ and ‘Hongyingtao’ planted in Hanyuan county were used as test materials to determine the mass fraction of organic acid components and the activities of enzymes related to acid metabolism during the developmental period. The results showed that: The mass fraction of malic acid was the highest and it showed a trend of increasing first and then decreasing in the two Chinese cherry fruits. The mass fraction of malic acid accounted for more than 85% of the total acid mass fraction, and the mass fraction of other organic acids was very low when the fruit matured. The total acidity was higher in ‘Hongyingtao’ fruit than in ‘Heiyingtao’ fruit. The activities of NAD-MDH and PEPC were similar to that of malic acid and showed a significant positive correlation with the mass fraction of malic acid. The activity of NADP-ME increased rapidly at the late stage of fruit development, which was significantly negatively correlated with the mass fraction of malic acid. The activity of citrate synthetase (CS) was significantly positively correlated with the mass fraction of citric acid. Malic acid was the main organic acid in two Chinese cherry fruits. The ‘Heiyingtao’ fruit had lower acid mass fraction and better flavor. NAD-MDH, NADP-ME and PEPC were key enzymes in the malic acid biosynthesis and metabolism of two Chinese cherry fruits.

Key words Chinese cherry; Organic acid; Acid metabolism enzyme

Received 2019-03-21 **Returned** 2019-05-10

Foundation item Key Research and Development Project of China(No. 2017YFC0505104).

First author LI Hang, male, master student. Research area: fruit tree cultivation physiology research. E-mail: 1260594557@qq.com

Corresponding author GONG Ronggao, male, Ph. D, professor, doctor supervisor. Research area: fruit tree cultivation physiology research. E-mail: 63830947@qq.com

(责任编辑:潘学燕 Responsible editor: PAN Xueyan)