

甜菜碱对苹果果实采后抗坏血酸代谢的影响

高田^{1,2}, 曲淋鸿^{1,2}, 郭迷^{1,2}, 黄蕊^{1,2}, 李灿婴^{1,2}, 葛永红^{1,2*}

(¹渤海大学食品科学与工程学院 辽宁锦州 121013

²生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心 辽宁锦州 121013)

摘要 抗坏血酸是苹果中的一种营养物质,对人体健康具有重要作用。为了阐明甜菜碱处理对苹果果实贮藏过程中抗坏血酸代谢的影响,以‘秋锦’苹果为试材,探讨采后 10 mmol/L 甜菜碱溶液浸泡对果实抗坏血酸含量及其合成和氧化再生途径关键酶活性和基因表达的影响。结果表明,甜菜碱处理在整个贮藏过程延缓了果实中抗坏血酸含量下降,在贮藏末期,甜菜碱处理和对照果实抗坏血酸含量分别为 8.54 mmol/kg 和 8.23 mmol/kg。甜菜碱处理上调了果实抗坏血酸生物合成和氧化再生途径中 *MdPGI*、*MdPMI*、*MdPMM*、*MdGMP*、*MdGME*、*MdGGP1*、*MdGGP2* 和 *MdGGP* 的表达以及 *GalDH*、*GalLDH*、*GalUR*、*APX*、*DHAR*、*MDHAR*、*GR* 活性和基因表达,在贮藏第 12 天,甜菜碱处理组果实 *GalDH*、*GalLDH*、*GalUR*、*APX*、*DHAR*、*MDHAR* 和 *GR* 活性分别是对照组果实的 1.07, 1.09, 1.30, 1.12, 1.17, 1.12 倍和 2.97 倍, *MdGalUR*、*MdAPX*、*MdDHAR*、*MdMDHAR* 和 *MdGR* 相对表达量分别是对照组果实的 1.29, 3.00, 1.29, 1.45 倍和 2.97 倍。然而,甜菜碱处理下调了果实抗坏血酸氧化酶活性及基因表达,在贮藏第 12 天,甜菜碱处理组果实 *AO* 活性及基因相对表达量分别比对照组低 27.97% 和 28.55%。结论:甜菜碱通过激活抗坏血酸合成和氧化再生途径中关键酶活性和基因表达来维持‘秋锦’苹果的抗氧化能力。
关键词 苹果果实; 甜菜碱; 抗坏血酸; *L*-半乳糖途径

文章编号 1009-7848(2025)02-0329-13 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2025.02.029

苹果(*Malus domestica* Borkh.)是一种典型的呼吸跃变型水果,含有丰富的营养、浓郁的香气和风味^[1]。‘秋锦’苹果为晚熟品种,由国光和红冠、元帅、旭、金冠、倭锦杂交育成,色泽呈深紫红色,果肉淡为黄色,味甜多汁^[2]。苹果中的抗坏血酸(Ascorbic acid, AsA)不仅是果实品质的重要指标,而且在抗氧化系统中具有重要作用^[3]。果实中 AsA 代谢包括合成、氧化、再生和降解^[4],其中 AsA 可以通过肌醇、*L*-葡萄糖、*L*-半乳糖和 *D*-半乳糖醛酸途径合成,而 *L*-半乳糖途径是公认的主要途径^[5]。此途径中,GDP-甘露糖焦磷酸化酶(GDP-*D*-mannose pyrophosphorylase, *GMP*)、GDP-*L*-半乳糖磷酸酶(GDP-*L*-galactose phosphorylase, *GGP*)和 *L*-半乳糖脱氢酶(*L*-Galactose dehydrogenase, *GalDH*)等是影响 AsA 合成的关键酶^[6-7]。此外,果实中的 AsA 氧化和再生主要通过抗坏血酸-谷胱甘肽(Ascorbate-glutathione, AsA-GSH)

循环实现。研究表明,高 AsA 含量提高了枣果实的抗氧化能力^[8],增加番茄果实中 AsA 含量,可有效缓解贮藏过程中的衰老过程^[9]。Fan 等^[10]研究发现采后褪黑素处理可以降低苹果果实 AsA 的损失,从而维持苹果的贮藏品质。Huang 等^[11]也发现外源咖啡酸处理后‘秋锦’苹果果实 AsA 含量变化与采后贮藏品质密切相关。然而,苹果果实贮藏期间 AsA 合成、氧化、再生和降解的研究尚未见报道。

甜菜碱是一种季胺类生物碱,具有调节渗透压^[12]、抗氧化^[13]和降低低温伤害^[14]等作用。Zhang 等^[8]研究发现,甜菜碱浸泡处理通过调控 H^+ -腺苷三磷酸酶(H^+ -ATPase)、 Ca^{2+} -腺苷三磷酸酶(Ca^{2+} -ATPase)、琥珀酸脱氢酶(Succinate dehydrogenase, *SDH*)和细胞色素氧化酶(Cytochrome oxidase, *CCO*)活性及基因表达,为抗氧化代谢提供必需的能量,从而延缓采后冬枣果实的软化。甜菜碱处理还通过提高 AsA 和脱氢抗坏血酸(Dehydroascorbic acid, *DHA*)含量以及脱氢抗坏血酸还原酶(Dehydroascorbate reductase, *DHAR*)和抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, *APX*)活性来

收稿日期: 2024-02-14

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31801595)

第一作者: 高田,女,硕士生

通信作者: 葛永红 E-mail: geyh1979@163.com

提高桃果实的抗氧化能力^[15]。此外,甜菜碱浸泡通过抑制呼吸作用及果胶物质代谢相关酶活性来保持南果梨果实的采后品质^[16]。然而,甜菜碱对苹果果实贮藏过程中 AsA 代谢的影响尚未见报道。

本文以‘秋锦’苹果果实为材料,研究采后甜菜碱浸泡处理对果实贮藏期间 *L*-半乳糖途径、*D*-半乳糖醛酸途径、AsA-GSH 循环中关键酶活性和基因表达以及相关代谢产物含量的影响,从而阐明甜菜碱处理对苹果果实 AsA 代谢的调控作用,为甜菜碱应用于果实采后贮藏和保鲜提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

‘秋锦’苹果果实人工采摘于辽宁省兴城市的一个果园中,用瓦楞纸箱(每箱 45 个)包装后在 6 h 内运到实验室,并进行后续试验。采收当天果实可溶性固形物含量为(16.0±0.26)%,果肉硬度为(9.8±0.14)N。

甜菜碱,山东西亚化学股份有限公司;苯基甲基磺酰氟(Phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF)、二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)、细胞色素 C、*L*-半乳糖内酯、聚乙烯吡咯烷酮(Polyvinylpyrrolidone, PVP),北京索莱宝生物科技有限公司;乙二胺四乙酸(Ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、甘油,天津博迪化工股份有限公司; β -巯基乙醇,锦州古城化学试剂厂;Triton X-100,天津市风船化学试剂科技有限公司;SuperReal PreMix Plus(SYBR Green),天根生化科技(北京)有限公司。

1.2 仪器与设备

UV-2550 紫外-可见分光光度计,山东奥秘科技有限公司;H1650RCence 湘仪台式高度冷冻离心机,上海沪粤明科学仪器有限公司;Thermo Forma 900 冰箱,北京金业德祥生物科技有限公司;ABI-2720 PCR,南京伊若达仪器设备有限公司;CFX96 Touch™ Real-Time PCR,伯乐生命医学产品(上海)有限公司;NanoDrop™ One/OneC 微量紫外-可见分光光度计,赛默飞世尔科技中国有限公司。

1.3 方法

1.3.1 甜菜碱处理和取样 选择大小一致、无病虫害和机械伤的果实随机分成两组,每组 300 个。

随后,将果实分别在蒸馏水(对照)和 10 mmol/L 甜菜碱溶液中浸泡 10 min。自然晾干后果实在(21±1)℃,相对湿度(70±5)%条件下贮藏待用。参照 Ge 等^[17]的方法在贮藏第 0~15 天每隔 2 d 取 30 个甜菜碱处理和对照果实赤道部位皮下 0.2~1.0 cm 处组织,液氮冷冻后于-80℃保存。

1.3.2 AsA、DHA、还原型谷胱甘肽(Reduced glutathione, GSH)和氧化型谷胱甘肽(Oxidized glutathione, GSSG)含量的测定 AsA 含量测定参考 Zhang 等^[18]的方法并修改。对照和甜菜碱处理果肉组织(1.5 g)用 3.0 mL HCl(0.1 mol/L)溶液在冰浴条件下研磨成匀浆,然后在 4℃、10 000×g 条件下离心 10 min 收集上清液。反应体系包括 2.0 mL、pH 6.0 磷酸缓冲液(0.1 mol/L)、上清液(0.1 mL)和蒸馏水(500 μ L)。充分反应后在波长 265 nm 处测定吸光值,AsA 含量以 mmol/kg 鲜重表示。

采用 Hodges 等^[19]的方法计算 DHA 含量。将 2.0 mL、pH 6.0 磷酸缓冲液(100 mmol/L)与 100 μ L 上述上清液和 500 μ L、2.0 mmol/L DTT 混合,在 24℃下孵育 8 min 后测定反应混合液在波长 265 nm 处吸光值,并通过 AsA 标准曲线计算总抗坏血酸(T-AsA)含量。用 T-AsA 含量减去 AsA 含量得到 DHA 含量,表示为 mmol/kg。

采用 Zhang 等^[18]的方法测定 GSH 含量。用 100 mol/L EDTA(3.0 mL)匀浆果肉组织(1.5 g),10 000×g 离心(4℃)20 min 得到上清液。反应体系包括 1 000 μ L 上清液,500 μ L、4.0 mol/L 5,5'-双硫代双-(2-硝基苯甲酸)和 1 000 μ L、0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)。在 24℃反应 10 min 后,测定反应混合液在波长 412 nm 处的吸光值。GSH 含量以 mmol/kg 表示。

采用 Zhu 等^[20]的方法稍作修改测定 GSSG 含量。反应体系为 500 μ L 上清液和 2.5 mL、4.0 mmol/L 乙烯吡啶。24℃反应 1 h 后,测定反应混合液在波长 412 nm 处的吸光值。GSSG 含量以 mmol/kg 表示。

1.3.3 GalDH、*L*-半乳糖-1,4-内酯脱氢酶(*L*-Galactono-1,4-lactone dehydrogenase, GalLDH)和 *D*-半乳糖醛酸还原酶(*D*-Galacturonate reductase, GalUR)活性测定 GalDH 活性测定参考 Gatzek 等^[21]的方法。用 4.0 mL、50 mol/L 磷酸缓冲

液 (pH 7.5) 含 PMSF (0.1 mmol/L)、Triton X-100 (2.0 mL/L)、PVP (15.0 g/L) 和 β -巯基乙醇 (2.0 mmol/L) 研磨果肉组织 (1.5 g), 将得到的匀浆 (4 $^{\circ}$ C, 12 000 \times g) 离心 20 min, 得到粗酶液。反应体系包括 1.8 mL 半乳糖 (0.5 mol/L)、3.0 mL Tris-HCl (pH 8.0, 0.1 mol/L)、200 μ L 粗酶液和 1.0 mL 二磷酸吡啶核苷酸 (NAD, 0.5 mol/L)。将 0.01 Δ OD_{340nm}/min 变化定义为一个酶活性单位 (U), GalDH 活性以 kU/kg 鲜重表示。

GalLDH 活性测定根据 Ôba 等^[22]的方法并略做修改。果肉组织 (1.5 g) 用 4.0 mL、100 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4, 含 0.4 mol/L 蔗糖、30 mmol/L β -巯基乙醇、10.0 g/L PVP、100 mL/L 甘油和 1.0 mol/L EDTA) 在冰浴条件下研磨成浆。然后在 10 000 \times g (4 $^{\circ}$ C) 条件下离心 30 min 弃上清液, 用 2.0 mL、0.05 mol/L Tris-HCl (pH 8.5, 含 5% 甘油和 5.0 mmol/L GSH) 溶解沉淀物, 得到粗酶液。反应体系包括 200 μ L 粗酶液, 400 μ L、1.0 mL/L Triton X-100, 500 μ L、0.02 mol/L 细胞色素 C 和 200 μ L、1.5 mmol/L L-半乳糖内酯。将 0.01 Δ OD_{350nm}/min 定义为一个酶活性单位 (U), GalLDH 活性以 kU/kg 鲜重表示。

GalUR 活性测定参考 Shen 等^[23]的方法。1.0 g 果肉组织用 3.0 mL、50 mmol/L 磷酸缓冲液 [pH 7.2, 含 2.0 mmol/L EDTA, 2.0 mmol/L DTT, 20% 甘油和 20.0 g/L PVP] 在低温下充分研磨, 然后在 4 $^{\circ}$ C、10 000 \times g 下离心 30 min 收集上清液。GalUR 反应体系包括 0.1 mL 上清液和 3.0 mL、50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.2), 其中含有 0.1 mmol/L 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸、30 mmol/L D-半乳糖、2.0 mmol/L EDTA 和 2.0 mmol/L DTT。将 0.01 Δ OD_{340nm}/min 定义为一个酶活性单位 (U), GalUR 活性以 kU/kg 鲜重表示。

1.3.4 APX、抗坏血酸氧化酶 (Ascorbate oxidase, AO)、谷胱甘肽还原酶 (Glutathione reductase, GR)、DHAR 和单脱氢抗坏血酸还原酶 (Monodehydroascorbate reductase, MDHAR) 活性测定 参考 Zhu 等^[24]的方法测定 APX、GR、MDHAR 和 DHAR 活性。所有粗酶液在 4 $^{\circ}$ C 下提取, 对照和甜菜碱处理果肉组织 (1.5 g) 用 3.0 mL、100 mmol/L

磷酸缓冲液 (pH 7.5, 含 3.0 mmol/L AsA 和 0.5 mmol/L EDTA) 研磨成匀浆。然后在 12 000 \times g 条件下离心 20 min, 得到粗酶液。APX 反应体系包括 100 μ L 粗酶液, 2.6 mL、50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.5) 和 0.3 mL、2.0 mmol/L H₂O₂。GR 反应体系包括 200 μ L 粗酶液, 100 μ L、5.0 mmol/L GSSG 和 100 μ L、3.0 mmol/L 还原性烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (Reducing nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH); DHAR 反应体系为 100 μ L 粗酶液, 400 μ L、2.0 mmol/L GSH, 300 μ L、0.1 mmol/L EDTA 和 400 μ L、0.5 mmol/L DHA; MDHAR 反应体系为 500 μ L 粗酶液, 200 μ L、10 mmol/L AsA, 100 μ L、40 μ mol/L 硫酸铜和 200 μ L、0.2 mol/L NADPH。分别在波长 290 nm (APX 和 DHAR) 和 340 nm (GR 和 MDHAR) 处测定反应混合物的吸光值。采用 Zhang 等^[25]方法测定 AO 活性。用含有 10 mL/L Triton X-100、1.0 mmol/L EDTA 和 20 g/L PVP 的 3.0 mL、50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.5) 在冰浴中研磨果肉组织 (1.5 g), 然后在 12 000 \times g (4 $^{\circ}$ C) 条件下离心 20 min 收集上清液。反应体系中含有 0.1 mL 粗酶液和 2.9 mL、0.15 mmol/L AsA。以每分钟吸光值变化 0.01 为一个酶活性单位 (U), APX、AO、GR、DHAR 和 MDHAR 活性用 kU/kg 鲜重表示。

1.4 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 分析

参照 Huang 等^[11]的方法采用十六烷基三甲基溴化铵法提取果肉组织总 RNA。采用 Zhu 等^[20]的方法测定总 RNA 的浓度和完整性, 并将 RNA 反转录成 cDNA。所有候选基因的引物序列由上海生工设计并合成 (表 1)。引物特异性和退火温度由 2 \times Taq PCR Master Mix (天根) 筛选。使用 SuperReal PreMix Plus (SYBR Green, 天根) 和 Step One PlusTM Real-Time PCR 系统 (Thermo Fisher Scientific Foster, USA) 分析基因的表达, 并计算相对表达量, 以 *Mdactin* 为内参基因。

1.5 数据分析

使用 Excel 2016 计算所有 3 次重复数据的标准误差和平均值并作图。应用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 计算基因相对表达量, 使用 SPSS 26 进行最小显著性差异分析, 显著性阈值为 $P < 0.05$ 。

表1 RT-qPCR分析的候选基因引物序列

Table 1 Primer sequences of the selected genes used for RT-qPCR analysis

基因	引物序列 (5'-3')	GeneBank ID
<i>MdPGI</i>	F: ATTTGCGTGGACAGCATTTCTTCG R: CAGCTACAACGAGCCCCGTAAAG	GO562785.1
<i>MdPMI</i>	F: TAAAGCTGAGCGAAACGATAGCAG R: GCTGAAGCGAACCAGTCCTCTG	XP_008342936
<i>MdPMM</i>	F: ATTCCGTTGCTGTCGCTCACTG R: GAAAGTTCAGATCCTCCCACAATGC	GO539513.1
<i>MdGMP</i>	F: TTCCAAGTCACAGAGGACAACCAAC R: CCGTTTATACAGCGCAGGGTCTG	GO559919.1
<i>MdGME</i>	F: CTTTCATCCCTTCCGAGCCCAAC R: ATTACCACTTTCGCACTGGACAGAG	XP_008345712
<i>MdGGP1</i>	F: ATCCTCGCCTTCTGGGTTGTTTC R: GCTCCGTGTATAGCCGTGATGTC	XP_008349897
<i>MdGGP2</i>	F: CCCCTCATCTCCTCTCCACACC R: ACCGCTGGTTTGAAGTGAATC	XP_008363580
<i>MdGPP</i>	F: TTCCTCTCTCCGCCGTTGATG R: CTCCACATGCTTGGTCTCGTAGAAC	NP_001315780
<i>MdGalDH</i>	F: TTCGGTGCTTCCCAACAACATCC R: GCCAAGCTCTCGGAGTTCAACC	AAP21783
<i>MdGalLDH</i>	F: CCACAACCACCTGAGAGCCATAAC R: CGGCGATGAGAGAGTGGATAATGC	NP_001315785
<i>MdAPX</i>	F: CATCGCTGCTGCTGCTGCTAG R: GCCGTCTTGTACTCTTCCGCTCAC	XP_008344846.1
<i>MdAO</i>	F: ATATTGGCTCAGCAAGTGACACAG R: CATGCCAGTGGATCGCTACATTCTC	XP_017181342
<i>MdDHAR</i>	F: ATTCCGTTGCTGCTCCTCCATTACC R: AGCGACCTCGAGAGCCATCTG	GO536704.1
<i>MdMDHAR</i>	F: GTCCGTCCGATCAGCCATCAATG R: ACCGCTCTTTGGAAATGACTGC	XP_008391762.1
<i>Mdactin</i>	F: TGACCGAATGAGCAAGGAAATTAC R: TACTCAGCTTTGGCAATCCACATC	NM001294098

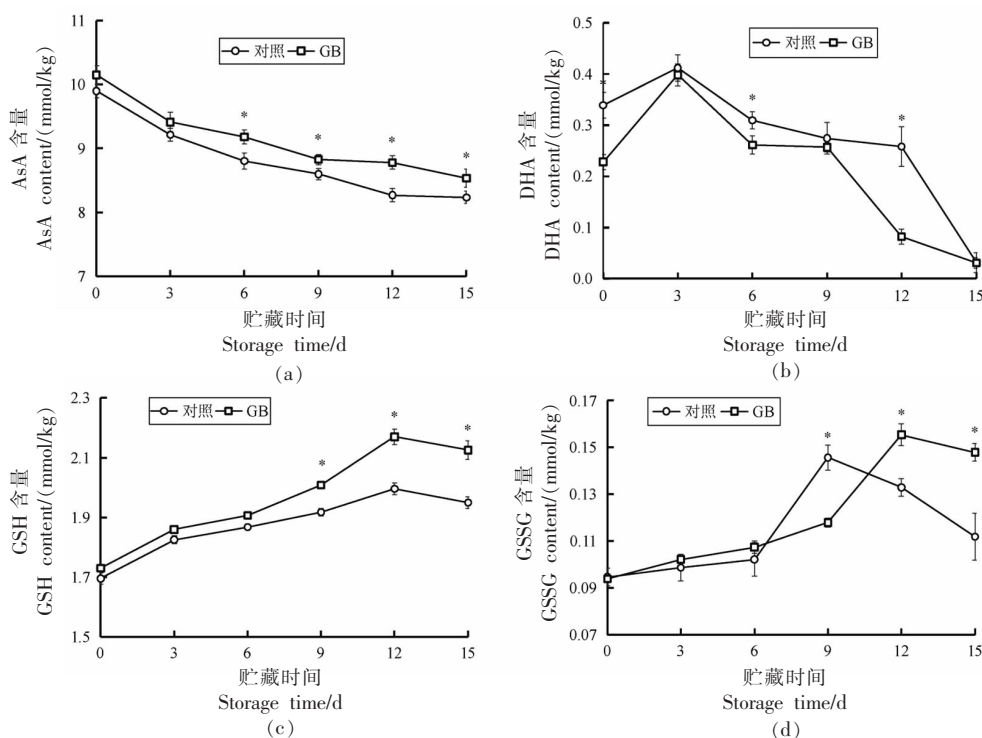
注:F代表上引物,R代表下引物。

2 结果与分析

2.1 甜菜碱处理对 AsA、GSH、DHA 和 GSSH 含量的影响

对照和甜菜碱处理组果实的 AsA 含量随着贮藏时间的延长逐渐降低,而甜菜碱处理组果实的 AsA 含量始终高于对照组果实(图 1a)。贮藏第 6~15 天,甜菜碱处理显著提高了果实 AsA 含量,分别是对照组果实的 1.04,1.03,1.06 倍和 1.04 倍。贮藏第 0~15 天,甜菜碱处理组果实的 DHA 含量低于对照组,二者在贮藏第 12 天差异最大,甜菜

碱处理组果实是对照组果实的 3.14 倍(图 1b)。甜菜碱处理和对照组果实 GSH 含量在整个贮藏期内逐渐升高,然而甜菜碱处理显著提高了贮藏第 9~15 天果实 GSH 含量,分别是对照组果实的 1.05,1.09 倍和 1.09 倍(图 1c)。由图 1d 可知,对照组果实 GSSG 含量在贮藏 0~9 d 升高,第 9~15 天降低,而甜菜碱处理组果实 GSSG 含量在贮藏第 0~12 天升高,随后开始下降。在贮藏第 12 和 15 天,甜菜碱处理组果实 GSSG 含量分别是对照组果实的 1.17 倍和 1.32 倍。



注：“*”表示对照和甜菜碱处理在同一天存在显著性差异(P<0.05)，下同。

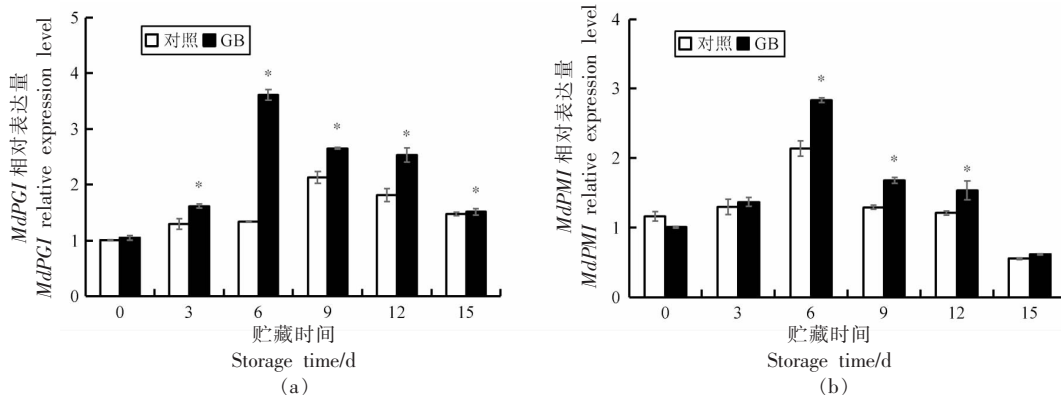
图 1 采后甜菜碱处理对苹果果实 AsA(a)、DHA(b)、GSH(c)和 GSSG(d)含量的影响

Fig.1 Effects of glycine betaine treatment on AsA (a), DHA (b), GSH (c) and GSSG (d) contents in apple fruit

2.2 甜菜碱处理对 AsA 合成途径关键基因表达的影响

2.2.1 对 *MdPGI*、*MdPMI*、*MdPMM* 和 *MdGMP* 表达的影响 甜菜碱处理组果实 *MdPGI* 和 *MdPMI* 的表达趋势与对照组果实相似，在贮藏前期表达量升高，达到峰值后呈下降趋势，并且甜菜碱处理组果实 *MdPGI* 和 *MdPMI* 的表达量均在第 6 天达到峰值，而甜菜碱处理在整个贮藏期内上调了 *MdPGI* 和 *MdPMI* 的表达(图 2a 和 2b)。贮藏第 3~15 天，对照组和甜菜碱处理组果实之间 *MdPGI* 的

表达存在显著差异(图 2a)，而 *MdPMI* 表达在贮藏第 6~12 天存在显著差异(图 2b)。贮藏第 6 天，甜菜碱处理组果实的 *MdPGI* 和 *MdPMI* 表达量分别是对照组果实的 2.70 倍和 1.33 倍。除第 0 天外，甜菜碱处理在贮藏 15 天内上调了 *MdPMM* 的表达(图 2c)。在贮藏第 12 和 15 天，甜菜碱处理组果实 *MdPMM* 的表达量分别是对照组果实的 1.39 倍和 1.66 倍。贮藏第 6~15 天，甜菜碱处理组果实中 *MdGMP* 的表达量分别是对照组果实的 1.80，1.75，1.62 倍和 2.17 倍(图 2d)。



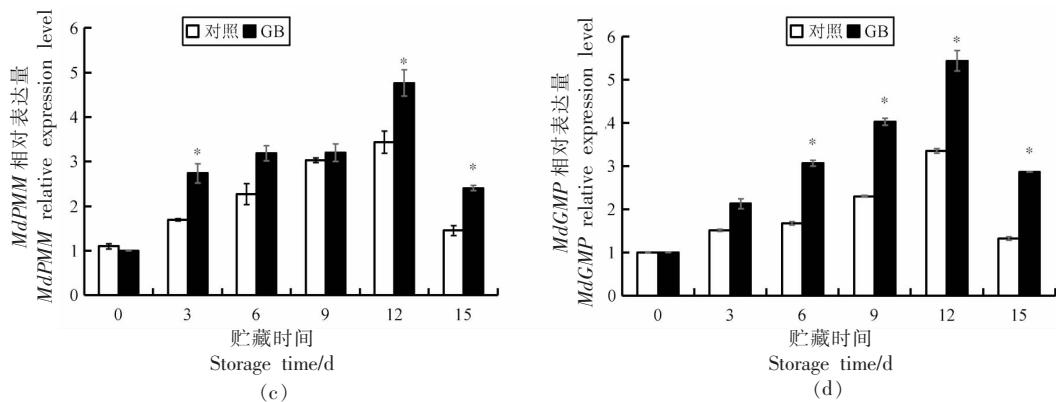


图2 采后甜菜碱处理对苹果果实 *MdPGL*(a)、*MdPMI*(b)、*MdPMM*(c)和 *MdGMP*(d)相对表达的影响
Fig.2 Effects of glycine betaine treatment on the expressions of *MdPGL* (a), *MdPMI* (b), *MdPMM* (c) and *q* (d) in apple fruit

2.2.2 对 *MdGME*、*MdGGP1*、*MdGGP2* 和 *MdGPP* 表达的影响 在贮藏第3和12天,甜菜碱处理组果实 *MdGME* 表达量分别是对照组果实的2.38倍和1.47倍(图3a)。贮藏第3~15天,甜菜碱处理组果实 *MdGGP1* 表达量分别是对照组果实的2.08, 2.60, 1.58, 1.17倍和1.64倍(图3b)。对照组果实和甜菜碱处理组果实 *MdGGP2* 表达量在贮藏第9

天均达到峰值,而在贮藏第6~15天,甜菜碱处理组果实中 *MdGGP2* 表达量分别是对照组果实的1.97, 1.33, 1.77倍和1.72倍(图3c)。甜菜碱处理显著上调了贮藏第3~15天果实 *MdGPP* 表达量,尤其在贮藏第12和15天,甜菜碱处理组果实 *MdGPP* 表达量是对照组果实的2.68倍和2.81倍(图3d)。

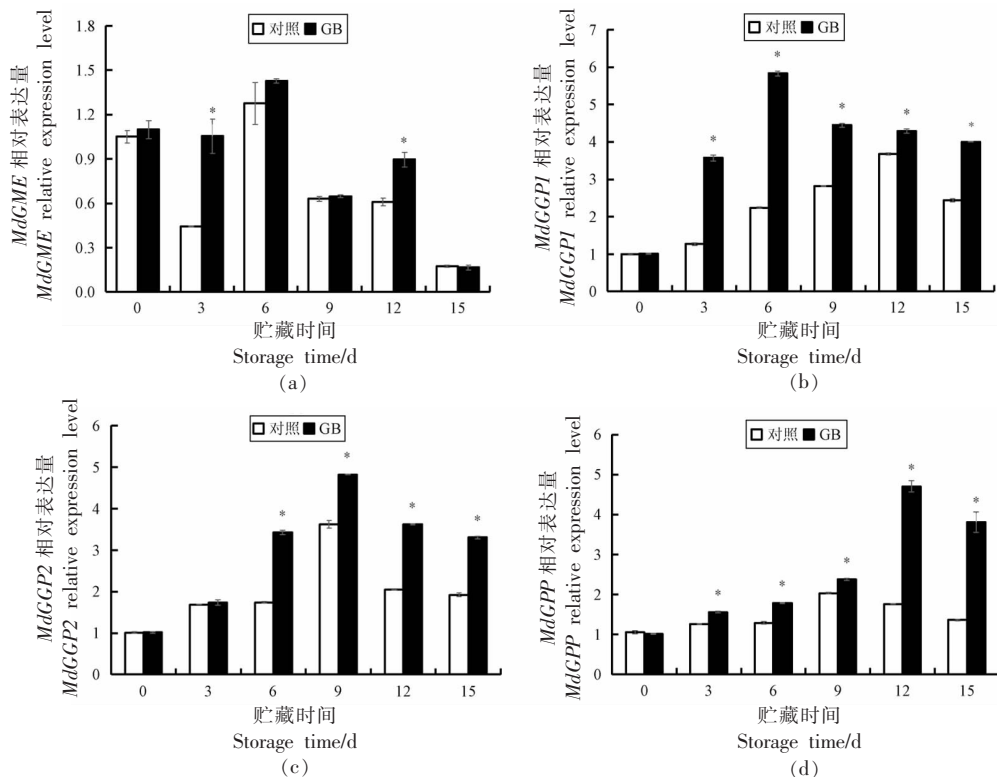


图3 采后甜菜碱处理对苹果果实 *MdGME*(a)、*MdGGP1*(b)、*MdGGP2*(c)和 *MdGPP*(d)相对表达的影响
Fig.3 Effects of glycine betaine treatment on the expressions of *MdGME* (a), *MdGGP1* (b), *MdGGP2* (c) and *MdGPP* (d) in apple fruit

2.2.3 对 GalDH、GalLDH 和 GalUR 活性及基因表达的影响 与对照组果实相比,甜菜碱处理在整个贮藏期内均提高了 GalDH 活性(图 4a)。在贮藏第 6 天和第 9 天,甜菜碱处理组果实 GalDH 活性分别是对照组果实的 1.12 倍和 1.11 倍。同时,甜菜碱处理上调了果实 *MdGalDH* 的表达,贮藏第 3~15 天处理组果实 *MdGalDH* 表达量分别是对照组果实的 1.46,1.53,1.49,1.40 倍和 1.39 倍(图

4b)。与对照组相比,甜菜碱处理提高了整个贮藏期间 GalLDH 的活性,且在第 3 天达到峰值,此时处理组果实 GalLDH 活性是对照组果实的 1.16 倍(图 4c)。甜菜碱处理组果实中 *MdGalLDH* 表达量在贮藏第 3~15 日均高于对照组果实,分别是对照组果实的 1.67,1.60,1.24,1.48 倍和 1.43 倍(图 4d)。

在贮藏过程中,2 组果实 GalUR 活性先升高后降低,并在第 12 天达到峰值,而甜菜碱处理组

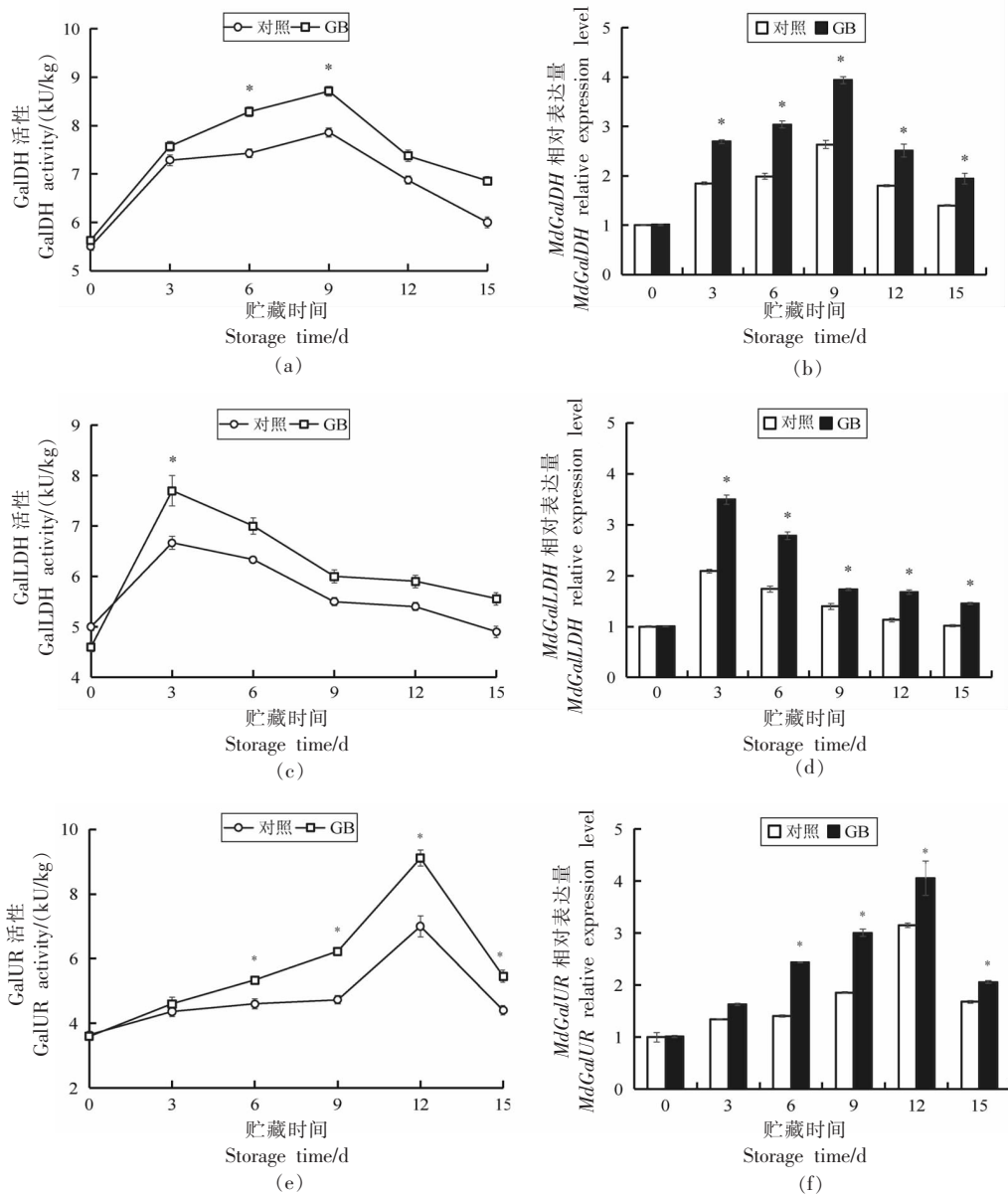


图 4 采后甜菜碱处理对苹果果实 GalDH(a)、GalLDH(c)和 GalUR(e)活性及 *MdGalDH*(b)、*MdGalLDH*(d)和 *MdGalUR*(f)相对表达的影响

Fig.4 Effects of glycine betaine treatment on the activities of GalDH (a), GalLDH (c) and GalUR (e) as well as the relative expressions of *MdGalDH* (b), *MdGalLDH* (d) and *MdGalUR* (f) in apple fruit

果实 GalUR 活性高于对照组果实(图 4e)。与对照组果实相比,甜菜碱处理使 GalUR 活性在贮藏第 6~15 天分别显著增加了 15.9%,31.6%,30.2%,24.0%。此外,甜菜碱处理还显著上调了果实 *MdGalUR* 表达,在贮藏第 6~15 天,甜菜碱处理组果实 *MdGalUR* 表达量分别是对照组果实的 1.74,1.62,1.29 倍和 1.23 倍(图 4f)。

2.3 甜菜碱处理对 AsA-GSH 循环中主要酶活性及基因表达的影响

2.3.1 APX 和 AO 活性及基因表达 甜菜碱处理和对照组果实 APX 活性在贮藏期间先升高后降低,在贮藏第 12 天达到最大,并且甜菜碱处理显著提高了贮藏第 6~15 天果实 APX 活性,分别是

对照组果实的 1.14,1.10,1.12 倍和 1.15 倍(图 5a)。在整个贮藏期间,甜菜碱处理上调了果实 *MdAPX* 的表达,而仅在贮藏第 6,12,15 天差异显著,分别是对照组果实的 1.62,3.00,1.83 倍(图 5b)。与对照组果实相比,甜菜碱处理在整个贮藏期内均抑制了 AO 活性,并且在贮藏第 6~15 天差异显著,对照组果实 AO 活性分别是甜菜碱处理组果实的 1.35,1.30,1.39,1.31 倍(图 5c)。*MdAO* 表达趋势与 AO 活性变化一致,在贮藏第 6~15 天,甜菜碱处理显著下调了 *MdAO* 表达,对照组果实分别是甜菜碱处理组果实的 1.76,1.63,1.40,2.18 倍(图 5d)。

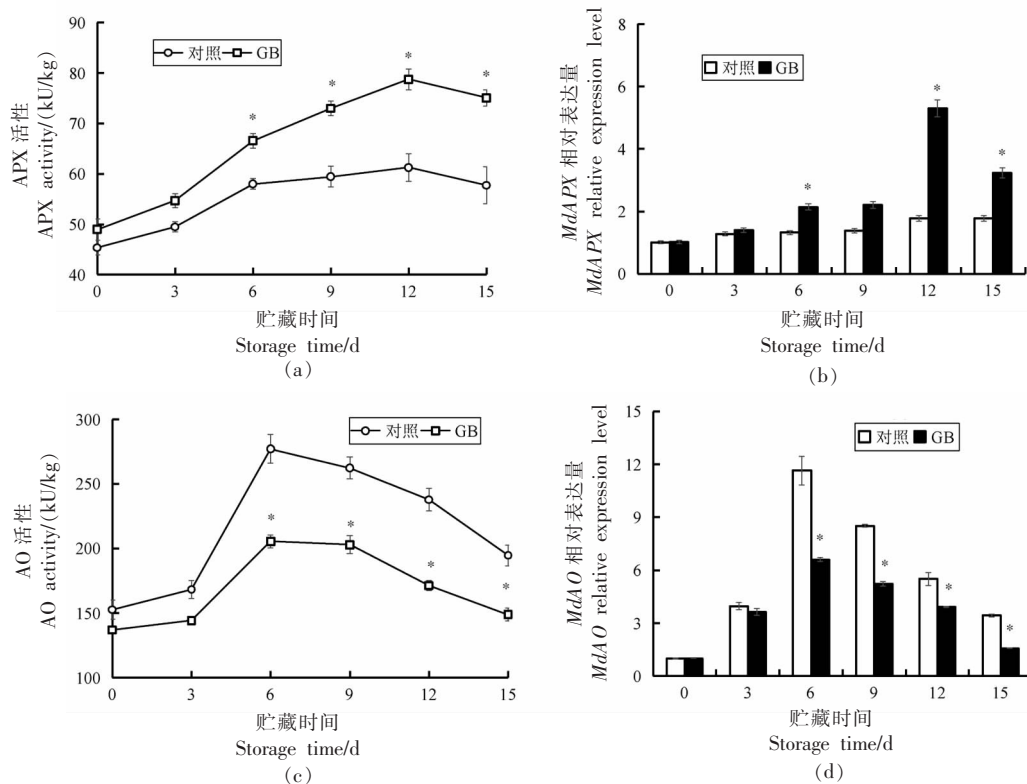


图 5 采后甜菜碱处理对苹果果实 APX(a)和 AO(c)活性及 *MdAPX*(b)和 *MdAO*(d)相对表达的影响

Fig.5 Effects of glycine betaine treatment on the activities of APX (a) and AO (c) as well as the relative expressions of *MdAPX* (b) and *MdAO* (d) in apple fruit

2.3.2 DHAR、MDHAR 及 GR 活性及基因表达

对照和甜菜碱处理组果实 DHAR 活性在整个贮藏期间均呈先升高后降低趋势,在贮藏第 6 天达到峰值,并且甜菜碱处理在贮藏第 3~12 天显著提高了果实 DHAR 活性,分别是对照组果实的 1.10,

1.14,1.13,1.17 倍(图 6a)。与对照组果实相比,甜菜碱处理在贮藏第 6 和 9 天显著上调了果实 *MdDHAR* 的表达,分别是对照组果实的 1.66 倍和 1.49 倍(图 6b)。对照和甜菜碱处理组果实 MDHAR 活性在贮藏 0~12 天升高,随后开始下降,而

甜菜碱处理组果实 MDHAR 活性始终高于对照组果实(图 6c)。在贮藏第 3~15 天之间,两组果实 MDHAR 活性差异显著,甜菜碱处理组果实分别是对照组果实的 1.10,1.14,1.10,1.12,1.15 倍。由图 6d 可知,*MdMDHAR* 表达的趋势与 MDHAR 活性一致,在贮藏第 6~15 天,甜菜碱处理组果实 *MdMDHAR* 的表达量分别是对照组果实的 1.26,

2.37,1.45,1.77 倍。同样,甜菜碱处理提高了果实 GR 活性,并且在贮藏第 3~15 天二者存在显著性差异,处理组果实分别是对照组果实的 1.13,1.43,1.14,2.97,3.41 倍(图 6e)。除贮藏前 3 天外,甜菜碱处理对果实 *MdGR* 表达的影响与 GR 活性变化保持一致,在贮藏第 3~15 天处理组果实 *MdGR* 表达量分别是对照组果实的 1.13,1.43,1.14,

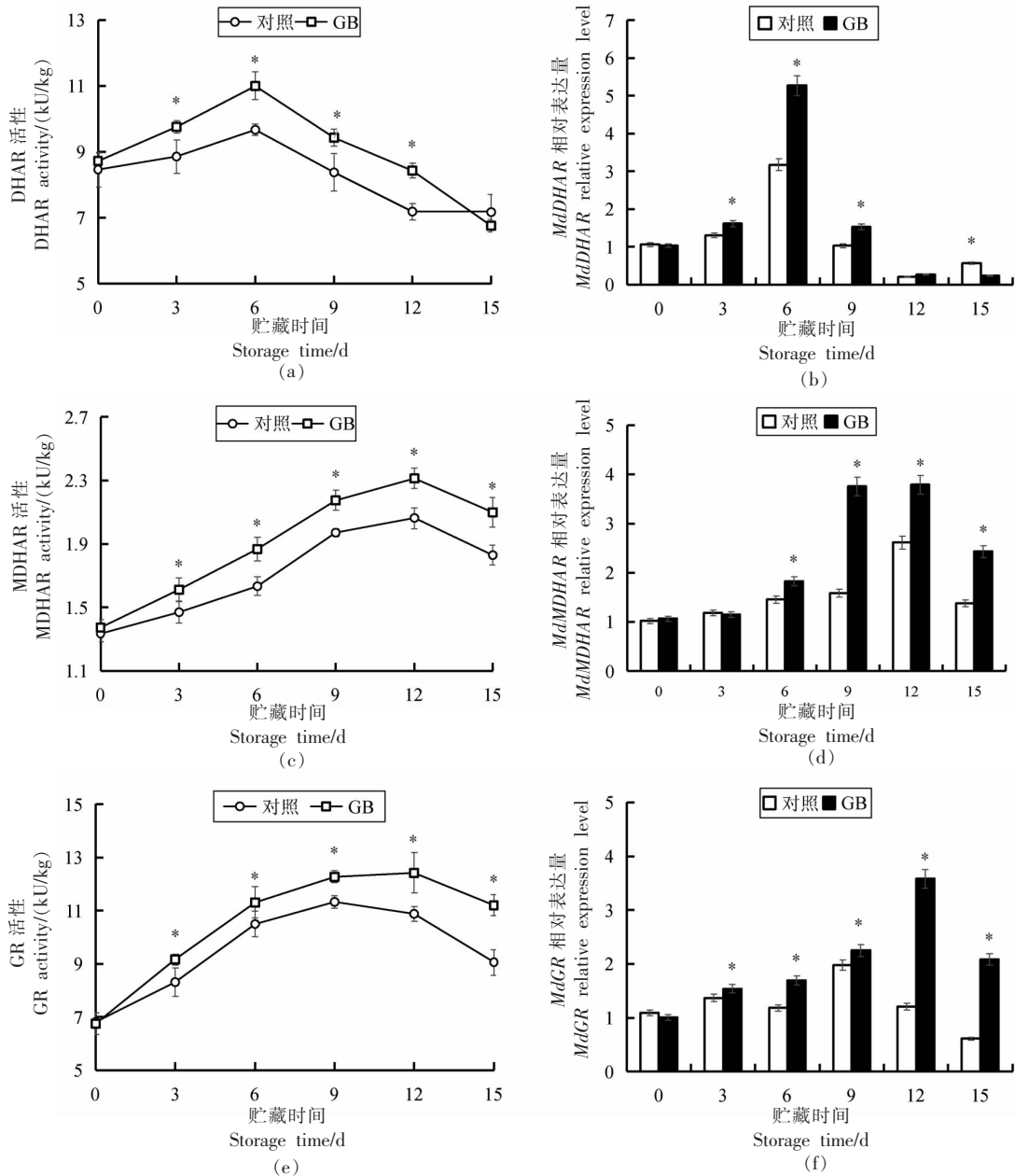


图 6 采后甜菜碱处理对苹果果实 DHAR(a)、MDHAR(c)和 GR(e)活性及 *MdDHAR*(b)、*MdMDHAR*(d)和 *MdGR*(f)相对表达的影响

Fig.6 Effect of glycine betaine treatment on the activities of DHAR (a), MDHAR (c) and GR (e) as well as the relative expressions of *MdDHAR* (b), *MdMDHAR* (d) and *MdGR* (f) in apple fruit

2.97,3.41倍(图6f)。

3 讨论

AsA与果蔬衰老、葡萄糖和细胞壁代谢密切相关^[25]。本研究发现,甜菜碱处理延缓了苹果果实中AsA含量的下降,并降低了DHA含量,说明甜菜碱处理维持了AsA的稳定性,抑制了AsA向DHA的转化。Liu等^[5]在猕猴桃果实上的研究表明,*L*-半乳糖途径中的*AdGME1/2*、*AdGalDH*和*AdGalLDH*的表达与AsA生物合成有关。此外,刺梨果实中RrGGP的表达与果实生长发育过程中AsA积累密切相关^[26]。同样,本研究发现甜菜碱处理提高了*L*-半乳糖途径中*MdPGI*、*MdPMI*、*MdPMM*、*MdGMP*和*MdGME*的表达。在*L*-半乳糖途径中,PGI、PMI、PMM和GMP先将葡萄糖-6-磷酸转化为*L*-半乳糖,然后GPP和GPP在中间阶段将*L*-半乳糖醛酸转化为*L*-半乳糖-1,4-内酯,最后在GalLDH的作用下氧化为AsA^[27]。然而,*MdGME*表达量均低于其它基因表达量,说明*MdGME*不是‘秋锦’苹果AsA合成的关键调控基因。甜菜碱处理显著上调了苹果果实中*MdGGPI*和*MdGGP2*的相对表达,且*MdGGPI*的表达量高于*MdGGP2*,推测*MdGGPI*是调控AsA合成的关键基因。同时,甜菜碱处理提高了*L*-半乳糖途径中*GalDH*和*GalLDH*的基因表达和酶活性。由此说明,AsA含量的降低在前期引发了合成通路中*MdGalDH*、*MdPGI*、*MdPMM*、*MdGGPI*和*MdGalLDH*表达的增加,从而保证了果实中较高的AsA含量。李明军等^[28]研究发现,‘嘎啦’苹果果实中AsA含量与*GalDH*活性呈显著正相关关系。这些结果表明,甜菜碱处理对*L*-半乳糖途径的AsA合成具有促进作用。

D-半乳糖醛酸途径是植物中另一条AsA的合成途径,*GalUR*是该途径的关键酶,将*L*-半乳糖醛酸转化为*D*-半乳糖醛酸^[29]。已有研究表明,*GalUR*与番茄^[30]、猕猴桃^[27]和刺梨^[4]中AsA的积累有关。本研究中,甜菜碱有效提高了苹果果实中*GalUR*活性和基因表达。陶启长等^[31]的研究发现,异源表达草莓*GalUR*显著提高了拟南芥和生菜中AsA的含量。上述研究表明,甜菜碱通过上调*L*-半乳糖途径和*D*-半乳糖途径中关键基因的表

达,提高了采后苹果果实中AsA含量。

果实中AsA含量不仅取决于其合成代谢,还取决于其分解代谢和再生途径。AsA-GSH循环不仅是AsA的氧化再生途径,而且能够清除果实内产生的过量活性氧^[32]。因此,通过研究分析APX、AO、DHAR、MDHAR和GR活性及基因表达来进一步研究甜菜碱处理对采后‘秋锦’苹果果实AsA代谢的影响。其中APX以AsA为特定的电子供体,在催化过氧化氢(Hydrogen peroxide, H₂O₂)转化为H₂O中起关键作用^[33],本研究发现,甜菜碱处理提高了苹果果实APX活性和基因表达。Zhang等^[8]也研究发现,甜菜碱处理延缓冬枣果实的衰老进程与其提高果实APX活性密切相关。Razavi等^[34]的研究发现,甜菜碱处理能够增加采后山楂果实APX、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶活性(Catalase, CAT),同时提高了AsA含量,保持了果实营养品质。DHAR和MDHAR是AsA-GSH循环中AsA再生的必需酶,DHAR接收来自GSH的电子,催化DHA产生AsA,MDHAR是NADPH电子供体再生AsA的关键酶^[35-36]。Wei等^[37]研究发现,苯并噻重氮处理增加了苹果果实中DHAR和MDHAR活性及基因表达,从而维持高水平的AsA-GSH系统循环能力,增强抗氧化活性。本研究表明,甜菜碱处理提高了苹果果实中DHAR和MDHAR活性及基因表达,说明甜菜碱处理促进了果实中AsA再生。

GR在NADPH提供电子的条件下将GSSG转化为GSH,是维持AsA-GSH循环的关键酶。本研究发现,甜菜碱处理提高了苹果果实中GR活性和基因表达,在贮藏期间保持了较高的AsA和GSH含量。甜菜碱处理可以增加桃果实冷藏期间AsA-GSH循环中APX、GR、MDHAR和DHAR的活性及关键基因的表达,促进了AsA与GSH再生,增强了果实抗冷性^[15]。在辣椒果实中,甜菜碱处理能够提高APX和GR活性及基因表达,从而减轻冷害对辣椒果实的潜在伤害^[38],说明甜菜碱处理增加了果实成熟过程中GSH和GSSG的积累,增加了采后苹果果实的抗逆性。然而,本文发现甜菜碱处理抑制了苹果果实中AO活性和基因表达。AO是AsA氧化分解的关键酶,催化AsA生

成MDHA,参与活性氧清除^[4]。在AsA-GSH循环中,AO在所有再生氧化酶中活性和基因表达量最高,说明AO在该通路中起主导作用。甜菜碱处理组果实AO活性和基因表达水平均低于对照组果实,说明甜菜碱处理使AsA氧化受阻,从而有效的促进了AsA再生。此外,甜菜碱处理促进了DHAR、MDHAR、GR以及APX的活性和基因表达,减缓了AsA含量的降低。

4 结论

甜菜碱处理显著提高了苹果果实AsA代谢相关的L-半乳糖途径和D-半乳糖醛酸途径中MdPGI、MdPMI、MdPMM、MdGMP、MdGME、MdGGPI、MdGGP2、MdGGP、MdGalDH、MdGalLDH和MdGalUR的相对表达以及GalDH、GalLDH和GalUR的活性。虽然提高了AsA-GSH循环中APX、DHAR、MDHAR及GR的活性及基因表达,但抑制了AsA降解酶AO的活性和基因表达。在这些酶的共同作用下抑制了贮藏期间果实中AsA向DHA的转化和降解。因此,甜菜碱处理可以通过调节AsA代谢来保持苹果品质并延缓果实衰老。

参 考 文 献

- [1] 束怀瑞. 苹果学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 109.
SHU H R. Apple science[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1999: 109.
- [2] 丛佩华. 中国苹果品种[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015: 57.
CONG P H. Apple varieties in China[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2015: 57.
- [3] ZHENG X Z, GONG M, ZHANG Q D, et al. Metabolism and regulation of ascorbic acid in fruits[J]. Plants (Basel), 2022, 11(12): 1602.
- [4] DING X C, YAO Q P, ZHU D Q, et al. Hydrogen-rich water maintains the quality of *Rosa roxburghii* by regulating AsA biosynthesis and regeneration[J]. Postharvest Biology and Technology, 2023, 195: 112136.
- [5] LIU Q L, LI X, JIN S W, et al. γ -Aminobutyric acid treatment induced chilling tolerance in postharvest kiwifruit (*Actinidia chinensis* cv. Hongyang) via regulating ascorbic acid metabolism[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134661.
- [6] GILBERT L, ALHAGDOW M, NUNES - NESI A, et al. GDP - D - mannose 3,5 - epimerase (GME) plays a key role at the intersection of ascorbate and non - cellulosic cell - wall biosynthesis in tomato[J]. The Plant Journal, 2009, 60(3): 499-508.
- [7] MASSOT C, STEVENS R, GÉNARD M, et al. Light affects ascorbate content and ascorbate-related gene expression in tomato leaves more than in fruits[J]. Planta, 2012, 235(1): 153-163.
- [8] ZHANG J Y, WANG C, CHEN C K, et al. Glycine betaine inhibits postharvest softening and quality decline of winter jujube fruit by regulating energy and antioxidant metabolism[J]. Food Chemistry, 2023, 410: 135445.
- [9] ALHAGDOW M, MOUNET F, GILBERT L, et al. Silencing of the mitochondrial ascorbate synthesizing enzyme L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase affects plant and fruit development in tomato[J]. Plant Physiology, 2007, 145(4): 1408-1422.
- [10] FAN Y T, LI C Y, LI Y H, et al. Postharvest melatonin dipping maintains quality of apples by mediating sucrose metabolism[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2022, 174: 43-50.
- [11] HUANG R, LI C Y, GUO M, et al. Caffeic acid regulated respiration, ethylene and reactive oxygen species metabolism to suppress senescence of *Malus domestica*[J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 194: 112074.
- [12] 张红敏, 李姣姣, 黑刚刚, 等. 外源甜菜碱处理对干旱胁迫下半夏氮代谢及相关酶活性的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(4): 229-236.
ZHANG H M, LI J J, HEI G G, et al. Effect of exogenous betaine on the secondary metabolites of *Pinellia ternate* under drought stress[J]. Acta Prata-culturae Sinica, 2014, 23(4): 229-236.
- [13] 李爱梅, 张玲, 张超, 等. 黄腐酸和甜菜碱预处理对干旱胁迫下平邑甜茶生理特性及光合的影响[J]. 西北植物学报, 2017, 37(2): 307-314.
LI A M, ZHANG L, ZHANG C, et al. Effects of fulvic acid and betaine pretreatment on physiological characteristics and photosynthesis of *Malus hupehensis* under drought stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2017, 37(2): 307-314.
- [14] WANG Q, DING T, ZUO J H, et al. Amelioration

- of postharvest chilling injury in sweet pepper by glycine betaine[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 112: 114–120.
- [15] 王懿, 侯媛媛, 马钰晴, 等. 甘氨酸甜菜碱处理对桃果实冷害及抗坏血酸-谷胱甘肽循环代谢的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(13): 158–165.
WANG Y, HOU Y Y, MA Y Q, et al. Effect of glycine betaine treatment on chilling injury and ascorbic acid-glutathione cycle metabolism in peach fruit[J]. *Food Science*, 2021, 42(13): 158–165.
- [16] 李灿婴, 侯佳宝, 张浪, 等. 外源甜菜碱处理对南果梨果实贮藏品质的影响[J]. *包装与食品机械*, 2021, 39(4): 31–37.
LI C Y, HOU J B, ZHANG L, et al. Effect of exogenous glycine betaine treatment on storage quality of Nanguo pears[J]. *Packing and Food Machinery*, 2021, 39(4): 31–37.
- [17] GE Y H, ZHANG J H, LI C Y, et al. Trisodium phosphate delays softening of jujube fruit by inhibiting cell wall-degrading enzyme activities during ambient storage[J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 262: 109059.
- [18] ZHANG X Y, ZHANG G C, LI P X, et al. Mechanisms of glycine betaine enhancing oxidative stress tolerance and biocontrol efficacy of *Pichia caribbica* against blue mold on apples[J]. *Biological Control*, 2017, 108: 55–63.
- [19] HODGES D M, ANDREWS C J, JOHNSON D A, et al. Antioxidant compound responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines[J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, 98(4): 685–692.
- [20] ZHU J, LI C Y, FAN Y T, et al. γ -Aminobutyric acid regulates mitochondrial energy metabolism and organic acids metabolism in apples during postharvest ripening[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2022, 186: 111846.
- [21] GATZEK S, WHEELER G L, SMIRNOFF N. Antisense suppression of *L*-galactose dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana* provides evidence for its role in ascorbate synthesis and reveals light modulated *L*-galactose synthesis[J]. *The Plant Journal*, 2010, 30(5): 541–553.
- [22] ÔBA K, ISHIKAWA S, NISHIKAWA M, et al. Purification and properties of *L*-galactono- γ -lactone dehydrogenase, a key enzyme for ascorbic acid biosynthesis, from sweet potato roots[J]. *The Journal of Biochemistry*, 1995, 117(1): 120–124.
- [23] SHEN C H, YEH K W. Hydrogen peroxide mediates the expression of ascorbate-related genes in response to methanol stimulation in *Oncidium*[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(5): 400–407.
- [24] ZHU J, LI C Y, SUN L, et al. Application of γ -aminobutyric acid induces disease resistance in apples through regulation of polyamine metabolism, GABA shunt and reactive oxygen species metabolism[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 291: 110588.
- [25] ZHANG Y, WANG K, XIAO X, et al. Effect of 1-MCP on the regulation processes involved in ascorbate metabolism in kiwifruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2021, 179: 111563.
- [26] 孙雅蕾, 杨曼, 安华明. 刺梨 GDP-L-半乳糖磷酸酶基因的表达及其与 AsA 积累的关系[J]. *园艺学报*, 2014, 41(6): 1175–1182.
SUN Y L, YANG M, AN H M, et al. Expression of GDP-L-galactose pyrophosphatase and its relationship with ascorbate accumulation in *Rosa roxburghii*[J]. *Horticultural Plant Journal*, 2014, 41(6): 1175–1182.
- [27] JIANG Z Y, ZHONG Y, ZHENG J, et al. *L*-Ascorbic acid metabolism in an ascorbate-rich kiwifruit (*Actinidia eriantha* Benth.) cv. 'White' during postharvest[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 124: 20–28.
- [28] 李明军, 高静, 马锋旺, 等. 苹果果实 *GalDH* 和 *GalLDH* 基因的表达与 AsA 的关系[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(2): 351–357.
LI M J, GAO J, MA F W, et al. Relationship between expressions of *GalDH* and *GalLDH* and ascorbate content in apple fruits[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(2): 351–357.
- [29] DAVEY M W, GILOT C, PERSIAU G, et al. Ascorbate biosynthesis in *Arabidopsis* cell suspension culture[J]. *Plant Physiology*, 1999, 121(2): 535–544.
- [30] CAI X F, ZHANG C J, YE J, et al. Ectopic expression of *FaGalUR* leads to ascorbate accumulation with enhanced oxidative stress, cold, and salt tolerance in tomato[J]. *Plant Growth Regulation*, 2015, 76: 187–197.
- [31] 陶启长, 郭新波, 孙小芬, 等. 转草莓 *GalUR* 基因提高拟南芥和生菜维生素 C 含量[J]. *上海农业学报*, 2013, 29(6): 14–19.

- TAO Q C, GUO X B, SUN X F, et al. Enhancement of vitamin C contents in *Arabidopsis thaliana* and lettuce by expression *GalUR* gene from strawberry[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2013, 29(6): 14–19.
- [32] LI C Y, ZHANG J H, GE Y H, et al. Postharvest acibenzolar - S - methyl treatment maintains storage quality and retards softening of apple fruit[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(3): e13141.
- [33] CAVERZAN A, PASSAIA G, ROSA S B, et al. Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection[J]. Genetics and Molecular Biology, 2012, 35: 1011–1019.
- [34] RAZAVI F, MAHMOUDI R, RABIEI V, et al. Glycine betaine treatment attenuates chilling injury and maintains nutritional quality of hawthorn fruit during storage at low temperature[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 233: 188–194.
- [35] DU Z, JIA X L, WANG Y, et al. Redox homeostasis and reactive oxygen species scavengers shift during ontogenetic phase changes in apple[J]. Plant Science, 2015, 236: 283–294.
- [36] HARB J, KHRAIWESH B, STREIF J, et al. Characterization of blueberry monodehydroascorbate reductase gene and changes in levels of ascorbic acid and the antioxidative capacity of water soluble antioxidants upon storage of fruits under various conditions[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 125(3): 390–395.
- [37] WEI M L, GE Y H, LI C Y, et al. G6PDH regulated NADPH production and reactive oxygen species metabolism to enhance disease resistance against blue mold in apple fruit by acibenzolar-S-methyl[J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 148: 228–235.
- [38] WANG Q, DING T, ZUO J H, et al. Amelioration of postharvest chilling injury in sweet pepper by glycine betaine[J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 112: 114–120.

Effects of Glycine Betaine Treatment on Postharvest Ascorbic Acid Metabolism in Apple

GAO Tian^{1,2}, QU Linhong^{1,2}, GUO Mi^{1,2}, HUANG Rui^{1,2}, LI Canying^{1,2}, GE Yonghong^{1,2*}

¹College of Food Science and Engineering, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

²National and Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Jinzhou 121013, Liaoning)

Abstract Ascorbic acid is a nutrient in apple fruit, which plays a crucial role in human health. In order to elucidate the effects of exogenous glycine betaine treatment on ascorbic acid metabolism in apple fruit during storage. ‘Qiujin’ apple fruit was used as the material to investigate the impact of postharvest 10 mmol/L glycine betaine dipping on changes in ascorbic acid content, key enzyme activities and gene expressions related to synthesis and oxidation regeneration pathways. The results showed that glycine betaine treatment delayed the decline in ascorbic acid content in apple fruit throughout the entire storage period. By the end of the storage, the ascorbic acid content was 8.54 mmol/kg in the betaine-treated fruit compared to 8.23 mmol/kg in the control fruit. Glycine betaine up-regulated the relative expressions of *MdPGI*, *MdPMI*, *MdPMM*, *MdGMP*, *MdGME*, *MdGGP1*, *MdGGP2* and *MdGGP*, as well as enhanced the activities of GalDH, GalLDH, GalUR, APX, DHAR, MDHAR and GR in the ascorbic acid biosynthesis and oxidation regeneration pathways. On the 12th day of storage, compared to the control group, the activities of GalDH, GalLDH, GalUR, APX, DHAR, MDHAR and GR in the glycine betaine-treated group were 1.07-, 1.09-, 1.30-, 1.12-, 1.17-, 1.12- and 2.97-times higher, respectively. Additionally, the relative expression levels of *MdGalUR*, *MdAPX*, *MdDHAR*, *MdMDHAR* and *MdGR* were 1.29-, 3.00-, 1.29-, 1.45- and 2.97-times higher than those of the control group, respectively. However, glycine betaine treatment down-regulated the activity and gene expression of ascorbate oxidase in fruit. On the 12th day of storage, AO activity and gene relative expression levels in the glycine betaine-treated group were reduced by 27.97% and 28.55% compared to the control group, respectively. Conclusion: These findings suggested that exogenous glycine betaine could enhance the antioxidant capacity of ‘Qiujin’ apple fruit by activating the activity and gene expression of the key enzymes involved in ascorbic acid biosynthesis and oxidation regeneration pathways.

Keywords apple fruit; glycine betaine; ascorbic acid; L-galactose pathway