

桃果实成熟前后细胞壁成分和降解酶活性的变化及其与果实硬度的关系

胡留申, 董晓颖, 李培环*, 王永章, 刘成连, 原永兵

青岛农业大学园艺学院, 山东青岛 266109

摘要: 比较桃品种‘双久红’和‘川中岛白桃’果实成熟前后 20 d 内果肉硬度、细胞壁成分和细胞壁降解酶活性变化的结果表明, 桃果实成熟 5 d 后, ‘双久红’桃果实的硬度、纤维素含量和原果胶含量均极显著高于‘川中岛白桃’; 从成熟前 15 d 开始, ‘双久红’的水溶性果胶含量、多聚半乳糖醛酸酶活性和纤维素酶活性均极显著低于‘川中岛白桃’; 整个成熟期间, ‘双久红’的果胶甲酯酶活性明显低于‘川中岛白桃’。相关分析表明, 果实硬度与原果胶、纤维素含量呈极显著正相关, 而与可溶性果胶含量、多聚半乳糖醛酸酶活性和纤维素酶活性呈极显著负相关。

关键词: 桃果实; 硬度; 细胞壁成分; 细胞壁降解酶

Changes in Cell Wall Components and Degrading Enzyme Activity and Their Relation to Hardness in Fruits of Peach (*Prunus persica* L.) before and after Ripening

HU Liu-Shen, DONG Xiao-Ying, LI Pei-Huan*, WANG Yong-Zhang, LIU Cheng-Lian, YUAN Yong-Bing

College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China

Abstract: The fruits of peach (*Prunus persica*) ‘Shuangjiuhong’ and ‘Kawanakajima Hakuto’ were used to study the changes in cell wall components and degrading enzyme activity in relation to fruit hardness during 20 days before and after ripening. The results showed that fruit hardness, cellulose and protopectin contents of ‘Shuangjiuhong’ were significantly higher than those of ‘Kawanakajima Hakuto’ after ripening for 5 days; water-soluble pectin, polygalacturonase and cellulase activities in fruit of ‘Shuangjiuhong’ were significantly lower than those of ‘Kawanakajima Hakuto’ since the 15th day before ripening. Pectinesterase activity of cv ‘Shuangjiuhong’ was lower than that of ‘Kawanakajima Hakuto’ during 20 days before and after ripening. Correlation analysis showed that it was marked positive correlation among the fruit hardness, cellulose and protopectin contents, and marked negative correlation among the fruit hardness, water-soluble pectin content, polygalacturonase and cellulase activities.

Key words: peach (*Prunus persica*) fruit; hardness; cell wall component; cell wall degrading enzyme

大多数品种桃果实成熟后, 变软快, 耐贮运性差, 严重影响桃果实的市场供应和桃树栽培的总体效益。选育成熟后果实硬度大、软化速度慢、耐贮运的新品种, 一直是桃树育种的目标之一。果实成熟前后的硬度变化与细胞壁成分及其降解酶活性的变化关系较大。细胞壁结构改变与胞壁中的果胶质、纤维素发生降解是导致果实软化的原因(Brummell 等 2004); Dawson 等(1995)认为, 果实的软化是果胶甲酯酶(pectinesterase, PME)、多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)和纤维素酶等降解酶导致细胞壁降解和造成细胞之间连接减少, 细胞离散所致。迄今为止, 有关桃果实硬度变化与细胞壁成分及其降解酶活性变

化关系的研究, 均是在果实采后贮藏过程中进行的。而对于采收时间延续很长的桃果实成熟后挂树硬度大和软化速度慢的相关机制研究极少。

桃品种‘双久红’是一个综合性状优良的长采收期新品种, 具有成熟后长期(30 d)挂树、果实硬度大、变软速度慢和耐贮运的特点(董晓颖等 2006)。本文以其果实为试材, 以常规品种‘川中岛白桃’为对照, 分别对两品种果实成熟前后

收稿 2007-05-31 修定 2007-07-13
资助 青岛农业大学科技攻关课题(6610315)。
* 通讯作者(E-mail: dxylph@163.com; Tel: 0532-86080193)。

20 d 内的果肉硬度、细胞壁组分含量及其降解酶活性进行了检测, 并比较两品种桃果实成熟前后细胞壁组分含量和降解酶的活性变化及其与果实硬度之间的关系, 探讨采收时间延续很长的桃果实成熟后软化速度慢的生理生化机制, 以供耐贮运品种最佳采收时间的确定和选育新品种作参考。

材料与方法

试验于2006年7月~2007年4月在本校进行。桃(*Prunus persica* L.)果实采自山东临朐县上林镇双埠村桃试验园。两品种各选10株树势相对一致的树, 从成熟(成熟期以两品种各自果实的发育天数计算: 川中岛120 d, 双久红130 d)前20 d开始, 每隔5 d取样一次, 直到成熟后20 d结束。每次随机取结果部位相同、成熟期一致的果实, 洗净、切分, 液氮处理后, 置于-70 °C超低温冰箱中保存备用。

测定果实硬度时, 随机选取果实5个, 胴部去皮, 用HHP-2001型果实硬度计(单位: $\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$)对每个果实重复测定3次, 果实硬度的计算为15个硬度值的平均值。原果胶含量和水溶性果胶含量用韩雅珊(1996)书中的咔唑比色法测定。纤维素含量测定参照郝再彬等(2002)书中的方法进行。PME活性测定参照Hagerman和Austin(1986)的方法进行, 取果肉1.00 g, 按1:4比例加入4 mL 8.8% (W/V)的NaCl, 其中2 mL用于研磨, 另2 mL用于清洗, 倒入5 mL离心管中, 于4 °C下以11 000 \times g离心10 min, 收集上清液, 用NaOH调节pH到7.5后测定酶活性。测定前所有的溶液的pH包括果胶、指示剂、 H_2O 均调至7.5。反应体系包括: 2.0 mL 0.5%的果胶溶液、0.15 mL 0.01% 溴麝香酚蓝指示剂、0.75 mL H_2O 和0.1 mL酶液; 反应温度维持在25 °C, 以双蒸水为对照测未加酶前的 OD_{620} , 根据标准曲线求出产生的半乳糖醛酸含量, 酶活性以 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ 表示。PG活性测定采用DNS法, 以半乳糖醛酸含量作标准曲线(李建国等2003)。纤维素酶活性测定依照徐昌杰等(1997)文中的方法进行。

测定结果均用Excel和Dps数据处理软件进行相关性和显著性分析。

实验结果

1 成熟前后两品种桃果实的硬度变化比较

从图1可见, 桃品种‘双久红’和‘川中岛白桃’果实成熟前的硬度均快速下降, 在此期间二者的硬度变化差别不显著($P>0.05$)。从成熟至成熟后20 d, 前者的果实硬度下降慢, 一直保持较高的水平; 而后者的果实硬度则迅速下降, 其下降幅度是前者的4.41倍, 在此期间‘双久红’的硬度极显著高于‘川中岛白桃’($P<0.01$)。

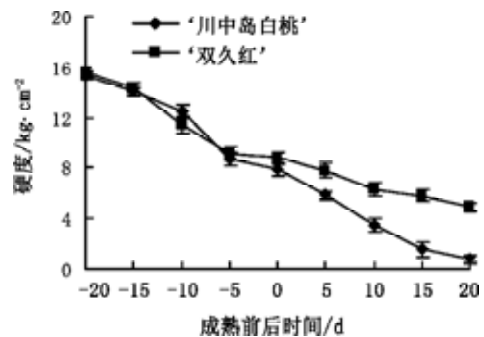


图1 两品种桃果实硬度的变化

Fig.1 Changes in fruit hardness of two peach cultivars
横坐标的负数表示果实成熟前, 正数表示果实成熟后, 下同此。

2 成熟前后两品种桃果肉纤维素含量和纤维素酶活性的变化及其与果实硬度的关系

图2显示, (1)两品种桃果实的纤维素含量在成熟过程中均呈下降的趋势。成熟前‘双久红’的纤维素含量虽稍高于‘川中岛白桃’, 但二者差异不显著; 果实成熟后, ‘双久红’的纤维素含量极显著高于‘川中岛白桃’($P<0.01$)。成熟后20 d, 前者纤维素含量比后者高的 $4.8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})$ 。(2)‘双久红’果实中纤维素酶活性从成熟前15 d到最后始终极显著低于‘川中岛白桃’的($P<0.01$), 并一直维持较低水平, 后者在成熟后20 d时的活性是前者的1.42倍。这与成熟后‘双久红’的果实硬度始终显著高于‘川中岛白桃’的结果相一致。相关性分析表明, ‘川中岛白桃’果肉硬度与纤维素含量、纤维素酶活性的相关系数分别为 $r=0.97^{**}$ 和 $r=-0.95^{**}$ (**表示极显著相关, 下文同此); ‘双久红’果肉硬度与纤维素含量、纤维素酶活性的相关系数分别

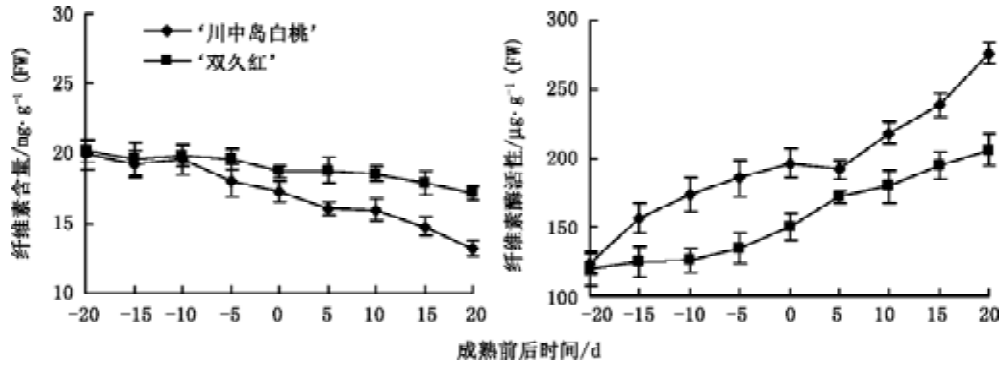


图2 两品种桃果实中纤维素含量和纤维素酶活性的变化

Fig.2 Changes in cellulose content and cellulase activity in fruits of two peach cultivars

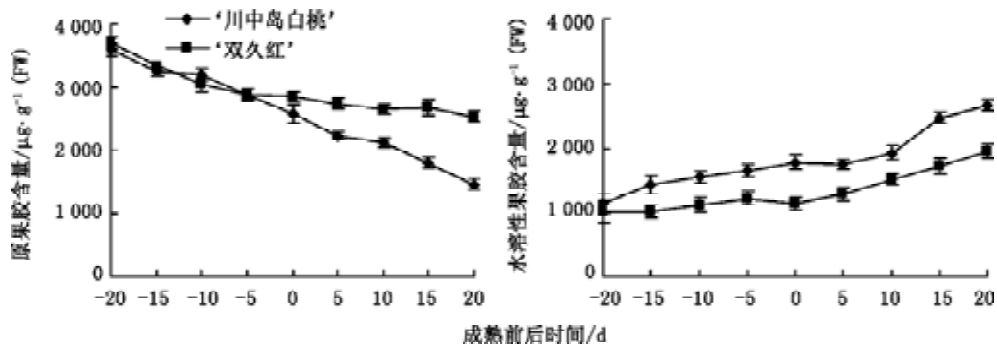


图3 两品种桃果实中原果胶与水溶性果胶含量的变化

Fig.3 Changes in protopectin and soluble pectin contents in fruits of two peach cultivars

为 $r=0.89^{**}$ 和 $r=-0.92^{**}$ 。

3 成熟前后两品种桃果实中原果胶、水溶性果胶含量的变化及其与果实硬度的关系

图3所示,两品种桃成熟过程中的原果胶含量均下降而水溶性果胶含量则均增加,两者呈极显著负相关,相关系数分别为 $r_{川中岛} = -0.95^{**}$ 和 $r_{双久红} = -0.87^{**}$ 。果实成熟前的两品种桃中原果胶含量差异不显著,成熟后的‘双久红’原果胶含量极显著高于同期的‘川中岛白桃’ ($P < 0.01$)。在整个成熟过程中,后者的原果胶含量下降值是前者的2.19倍。从成熟前15d开始,‘双久红’果实中水溶性果胶含量始终极显著低于同期的‘川中岛白桃’ ($P < 0.01$),并且都是在桃果实成熟后开始大幅度上升。此外,后者的水溶性果胶含量增值是前者的1.64倍,这与前者果实成熟后变软慢而后者变软快的结果相吻合。相关性分析表明,‘川中岛白桃’果肉硬度与原果胶、水溶性果胶含量的相关系数分别为 $r=0.98^{**}$ 和 $r=$

-0.93^{**} ; ‘双久红’果肉硬度与原果胶、水溶性果胶含量的相关系数分别为 $r=0.98^{**}$ 和 $r=-0.89^{**}$ 。

4 成熟前后两品种桃果实中PG和PME的活性变化及其与果实硬度的关系

由图4可知(1)两品种桃的PG活性变化趋势相同。但从成熟前15d开始,‘双久红’的PG活性一直极显著低于‘川中岛白桃’的 ($P < 0.01$),两者都是在桃果实成熟后开始大幅度上升。在整个成熟过程中,后者果实中的PG活性增值是前者的1.61倍。(2)在成熟过程中,两品种桃果实中的PME活性均呈先上升后下降的趋势,‘川中岛白桃’的PME活性均高于‘双久红’,其峰值也比‘双久红’提前5d出现,为‘双久红’的1.31倍。相关性分析表明,‘川中岛白桃’果肉硬度与PG和PME活性的相关系数分别为 $r=-0.96^{**}$ 和 $r=-0.42$; ‘双久红’果肉硬度与PG和PME活性的相关系数分别为 $r=-0.88^{**}$ 和 $r=$

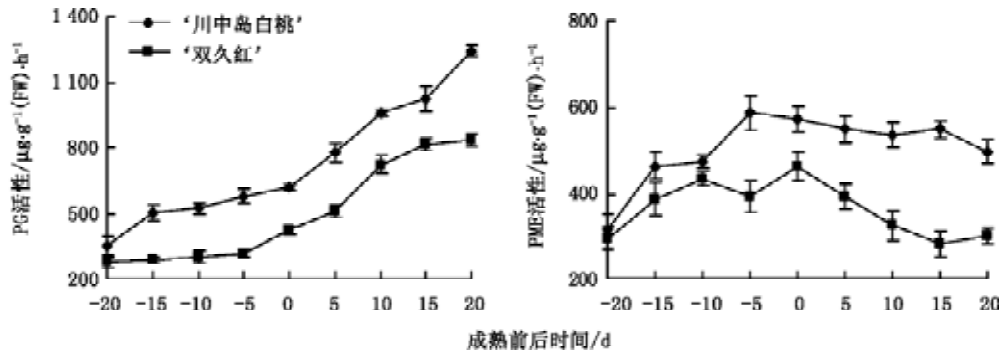


图4 两品种桃果实中PG和PME活性的变化

Fig.4 Changes in PG and PME activities in fruits of two peach cultivars

-0.23。

讨 论

果实成熟中的果肉硬度变化是一个复杂的生理生化过程。细胞壁组分含量变化、细胞膜的破坏和细胞膨压的变化均是影响果实硬度的细胞学基础(McCann等1990)。纤维素是细胞壁的骨架结构,纤维素酶活性提高后,纤维素降解,从而导致细胞壁“经纬结构”松散,于是果实软化,这表明所谓纤维素降解即意味着细胞壁的解体 and 果实的软化(茅林春和张上隆2001)。彭丽桃等(2002)报道,纤维素酶是影响桃果实软化的酶,但其对果实初期的软化作用不大,只是在后阶段中会导致果实的进一步软化。本文结果与此基本一致。

果实质地变化与细胞壁组分降解之间的关系密切,果胶是果实细胞壁中胶层的主要组分(Seymour等1990)。果实的成熟软化常伴随着原果胶降解和水溶性果胶含量同步上升,于是细胞壁中胶层溶解,导致细胞间粘合力下降,从而引起果实软化(Dawson等1992)。本文结果显示,随着果实的成熟,两品种桃果实中原果胶含量都下降,桃品种‘川中岛白桃’原果胶含量下降速度是‘双久红’的2.19倍;后者的水溶性果胶含量上升幅度极显著低于前者($P < 0.01$),尤其是成熟后期更加明显。两者的果实硬度也与原果胶和水溶性果胶含量都呈极显著相关。由此可见,较低的原果胶降解速率和缓慢的水溶性果胶含量上升是‘双久红’果实成熟后硬度较大的原因之一。

已有研究表明,PG是果实软化的关键酶。果胶降解与果胶酶活性的变化密切相关,两者在果实成熟后期的关系最大,其作用是催化多聚半乳糖醛酸降解,进而促进果实软化(王俊宁等2005)。本文结果表明,随着果实的成熟,桃品种‘双久红’的PG活性极显著低于桃品种‘川中岛白桃’($P < 0.01$),特别是从成熟后开始,前者的PG活性上升较慢,至成熟后20d时,PG活性增值比后者低1.61倍。这样,前者果实中的多聚半乳糖醛酸降解减弱,因而其在成熟后的果实硬度下降也较慢。

从本文结果来看,两品种桃果实硬度下降的初始阶段似乎与PME活性上升有一定的联系,但相关性分析表明,两品种桃的PME活性与果实硬度下降之间的相关性不明显。这表明,PME的生理作用是启动PG的活性,在果胶物质降解和果实软化中起辅助作用。这与Hagerman和Austin(1986)的研究结果相一致。

参考文献

- 董晓颖,李培环,刘成连,王永章,原永兵,王兆成(2006). 桃采收期新品种双久红的选育. 中国果树, (2): 3~5
- 韩雅珊(1996). 食品化学实验指导. 北京: 中国农业大学出版社, 39~41
- 郝再彬,苍晶,徐仲(2002). 植物生理实验技术. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 166~168
- 李建国,黄旭明,黄辉白(2003). 裂果易发性不同的荔枝品种果皮中细胞壁代谢酶活性的比较. 植物生理与分子生物学报, 29 (2): 141~146
- 茅林春,张上隆(2001). 果胶酶和纤维素酶在桃果实成熟和聚败中的作用. 园艺学报, 28 (2): 107~111

- 彭丽桃, 杨书珍, 任小林, 饶景萍, 王俊宁(2002). 采后两种不同果肉类型油桃软化相关酶活性的变化. 热带亚热带植物学报, 10 (2): 171~176
- 王俊宁, 饶景萍, 任小林, 弓德强, 朱东兴(2005). 1-甲基环丙烯(1-MCP)对油桃果实软化的影响. 植物生理学通讯, 41 (2): 153~156
- 徐昌杰, 陈昆松, 张上隆(1997). 蔗糖酶对柑桔外切纤维素酶和外切多聚半乳糖醛酸酶活性测定的干扰及排除. 植物生理学通讯, 33 (1): 43~46
- Brummell DA, Cin VD, Crisosto CH, Labavitch JM (2004). Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. J Exp Bot, 55: 2029~2039
- Dawson DM, Melton LD, Watkins CB (1992). Cell wall changes in nectarines (*Prunus persica*): solubilization and depolymerization of pectic and neutral polymers during ripening and in mealy fruit. Plant Physiol, 100: 1203~1210
- Dawson DM, Walkings CB, Melton LD (1995). Intermittent harming affects cell wall composition of 'Frantasia' nectarine during ripening and storage. J Amer Soc Hort Sci, 120 (6): 1057~1062
- Hagerman AE, Austin PJ (1986). Continuous spectrophotometric assay for plant pectin methylesterase. J Agric Food Chem, 34: 440~444
- McCann MC, Wells B, Roberts K (1990). Direct visualization of cross-links in the primary plant cell wall. Cell Sci, 96: 323~334
- Seymour GB, Colquhoun IJ, DuPont MS, Parsley KR, Selvendran RR (1990). Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits. Phytochem, 29 (3): 725~731