

树莓果实发育过程中细胞壁成分及相关酶活性变化

杨国慧, 吕冰玉, 韩德果, 葛秋来, 张岩, 史影肖

(东北农业大学 园艺学院, 农业部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以秋果型树莓“哈瑞太兹”和夏果型树莓“菲尔杜德”2种不同类型的树莓为试材,研究了绿果膨大期(花后7 d)、转白期(花后14 d)、着色期(花后21 d)、可采成熟期(花后24 d)和过熟期(花后27 d)树莓果实原果胶、果胶、纤维素含量及相关酶活性的变化情况。结果表明:随树莓果实的成熟软化,原果胶含量在着色期前表现为上升,之后下降;可溶性果胶呈现逐渐上升趋势,而纤维素含量则表现为降低趋势;多聚半乳糖醛酸酶(PG)、果胶甲酯酶(PME)和 β -半乳糖苷酶(β -Gal)和纤维素酶在可采成熟期前均表现为上升趋势,尤其PG从着色期到可采成熟期上升迅速,而从可采成熟期到过熟期,只有PG酶表现为下降,其它3种酶仍表现为上升趋势。

关键词:树莓;果实发育;细胞壁成分;酶

中图分类号:S 663.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)11-0027-04

树莓为东北寒地种植的多年生半灌木类小浆果果树,其果实味道醇香怡人,富含树莓酮、鞣花酸、超氧化物歧化酶、维生素E等多种生理活性物质,具有降脂、抗癌、提高免疫力等功效^[1]。但树莓果实柔嫩多汁,成熟后需及时采收,进入冷库,否则极易流汁、腐烂。因此提高树莓果实硬度、延长其贮藏期限一直是树莓研究领域比较重视的问题^[2]。

果实软化是影响其采后贮藏性的重要因素,也是果实成熟过程中的一个显著特征。果实细胞壁多糖成分(果胶、纤维素、半纤维素等)在相关软化酶,多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)、果胶甲酯酶(pectin methylesterase, PME)和 β -半乳糖苷酶(β -Galactosidase, β -Gal)和纤维素酶(cellulase)等作用下发生降解被认为是果实变软的主要原因^[3-7]。由于细胞壁多糖的含量和组成在不同种类的果实、果实的不同生长发育期都不完全相同,因此在不同种类的果实和不同的发育阶段起主要作用的酶也不完全相同^[8]。关于树莓果实发育过程中细胞壁成分及其相关酶活性的变化研究鲜见报道,因此,现以2种不同结果类型的红树莓品种为试材,通过分析不同发育期树莓果实中果胶和纤维素的含量,以及相关酶的活性,以期找出导致树莓果实软化的关键细胞壁降解酶,为今后利用分子育种培育耐贮运品种和果实的采后调控提供依据。

第一作者简介:杨国慧(1963-),女,博士,教授,现主要从事小浆果种质资源与栽培生理等研究工作。E-mail: xiaoxixeb@163.com.

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究资助项目(12541044)。

收稿日期:2015-12-18

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种为夏果型树莓“菲尔杜德”(‘Fertod Zamatos’)和秋果型树莓“哈瑞太兹”(‘Heritage’),分别于绿果膨大期(花后7 d)、转白期(花后14 d)、着色期(花后21 d,红白各50%)、成熟期(花后24 d,果实全部着红和花托分离)和过熟期(花后27 d,果实紫红色)采摘果实。采样时间为2012年6—9月,采摘后用液氮速冻,于-80℃冰箱保存。

1.2 试验方法

利用TA XT PLUS型质构仪(英国Stable Micro Systems公司)测定果实硬度,探头直径为3.5 mm,其下压距离为8 mm,每次测10个果实;采用咔唑硫酸比色法测定原果胶及水溶性果胶含量,于530 nm处测定吸光度,采用蒽酮比色法对纤维素进行测定,于620 nm处测定吸光度;参照PRIYA-SETHU^[9]的方法测定多聚半乳糖醛酸酶(PG)、果胶甲酯酶(PME)、纤维素酶活性;参照阚娟等^[10]方法测定 β -半乳糖苷酶(β -Gal)的活性。

1.3 数据分析

采用DPS和Excel软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 细胞壁多糖成分变化

2.1.1 原果胶含量变化 由图1可知,“菲尔杜德”与“哈瑞太兹”2个品种原果胶含量均在生长发育前期(花后7~21 d)呈现增长趋势,在着色期(花后21 d)达到最高值,之后(花后21~27 d)呈显著下降趋势,过熟期“菲尔杜德”原果胶含量降到0.67%,“哈瑞太兹”降

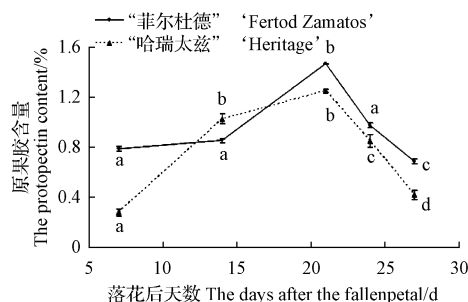


图1 2种树莓果实发育过程中原果胶含量动态变化

Fig. 1 The dynamic change of protopectin content during two types of raspberry fruit development process

到0.42%。

2.1.2 可溶性果胶含量变化 由图2可知,“菲尔杜德”与“哈瑞太兹”果实可溶性果胶含量从绿果期(花后7 d)到过熟期(花后27 d)表现为持续上升,转白期(花后14 d)之后,“哈瑞太兹”上升幅度高于“菲尔杜德”,在过熟期“菲尔杜德”达到0.24%，“哈瑞太兹”达到0.55%。

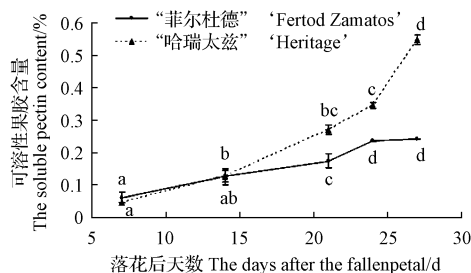


图2 2种树莓果实发育过程中可溶性果胶含量动态变化

Fig. 2 The dynamic change of soluble pectin content during two types of raspberry fruit development process

2.1.3 纤维素含量变化 由图3可知,2个品种纤维素含量都随果实的发育成熟呈持续降低的趋势,在过熟期(花后27 d)达到最低值,“菲尔杜德”为10.23%，“哈瑞太兹”为15.95%,在整个果实发育期间品种“哈瑞太兹”的纤维素含量均高于“菲尔杜德”。

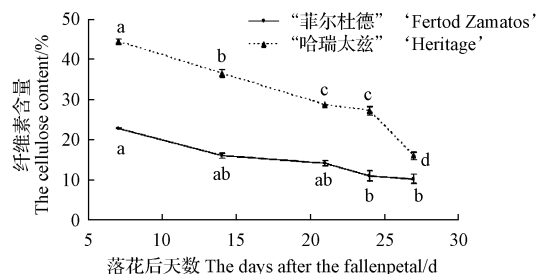


图3 2种树莓果实发育过程中纤维素含量动态变化

Fig. 3 The dynamic change of cellulose content during two types of raspberry fruit development process

2.2 细胞壁相关酶活性变化

2.2.1 多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性的变化 由图4可

知,从绿果期(花后7 d)开始直至着色期(花后21 d),2个品种果实中PG活性均呈缓慢上升趋势,从着色期到成熟期(花后24 d),转为显著上升状态,在成熟期达到最高值,“菲尔杜德”为 $1.8692 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ ，“哈瑞太兹”为 $1.4559 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。从成熟期到过熟期(花后27 d),2个品种果实中的PG活性均呈下降趋势,“菲尔杜德”下降显著,“哈瑞太兹”表现缓慢。

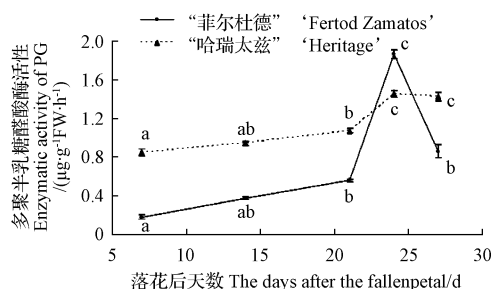


图4 2种树莓果实发育过程中多聚半乳糖醛酸酶活性动态变化

Fig. 4 The dynamic change of PG activity during two types of raspberry fruit development process

2.2.2 果胶甲酯酶(PME)活性的变化 由图5可知,2个品种果实中PME活性随果实的成熟都呈上升趋势,从绿果期(花后7 d)到着色期(花后21 d)上升比较缓慢。在着色期后,PME活性显著上升,在过熟期(花后27 d)达到最高,“菲尔杜德”为 $3.345 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ ，“哈瑞太兹”为 $3.697 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。在整个生长发育期间,“哈瑞太兹”PME活性始终高于“菲尔杜德”。

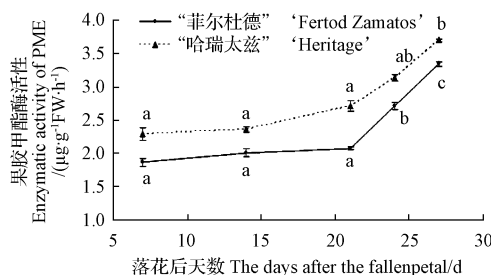


图5 2种树莓果实发育过程中果胶甲酯酶活性动态变化

Fig. 5 The dynamic change of PME methylesterase activity during two types of raspberry fruit development process

2.2.3 纤维素酶活性的变化 由图6可知,2个品种果实在整个生长发育期的纤维素酶活性都表现为平缓上升趋势,尤其是“哈瑞太兹”,2个品种均在过熟期(花后27 d)达到最高值,“哈瑞太兹”为 $1.4684 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ ，“菲尔杜德”为 $0.9949 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。“哈瑞太兹”的纤维素酶活性在果实的生长发育期间始终高于“菲尔杜德”。

2.2.4 β -半乳糖苷酶(β -Gal)活性的变化 由图7可知,“菲尔杜德”从绿果期(花后7 d)到成熟期(花后24 d)

β -Gal 酶活性呈极为缓慢的上升趋势,从成熟期开始至过熟期急剧上升,过熟期(花后 27 d) β -Gal 活性达到 $1.431 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$;"哈瑞太兹"从绿果期到着色期也呈缓慢上升的趋势,着色期(花后 21 d)后,上升幅度明显升高,在过熟期达到最大值 $2.84 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。"哈瑞太兹"的 β -Gal 活性在整个果实生长发育期始终高于"菲尔杜德"。

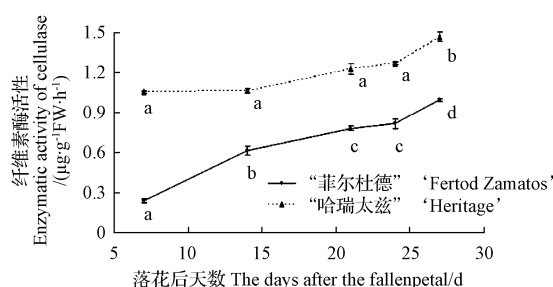


图 6 2 种树莓果实发育过程中纤维素酶活性动态变化

Fig. 6 The dynamic change of cellulase activity during two types of raspberry fruit development process

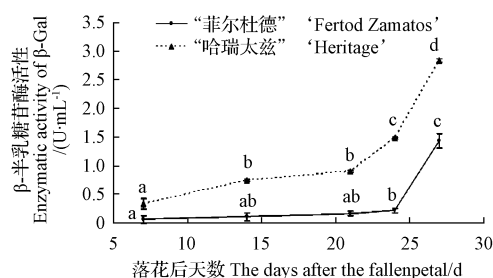


图 7 2 种树莓果实发育过程中
 β -半乳糖苷酶活性动态变化

Fig. 7 The dynamic change of β -Gal activity during two types of raspberry fruit development process

3 讨论与结论

树莓果实发育成熟一般需要 30 d 左右的时间,整个期间果实持续膨大,外观变化明显,根据果实外观的变化可划分为 5 个时期:绿果期、转白期、着色期、可采成熟期、过熟期。特别是着色期到可采成熟期变化尤为显著,果实从部分着红到全部着红仅需 3 d 左右时间,此期果实硬度也迅速下降,2 个品种降幅均可达 70% 左右,表现出品种固有的特殊风味,进入可采成熟期。由可采成熟期到过熟期,树莓果实颜色加深,由鲜红色转为紫红色,果肉持续变软。该试验研究结果表明,随着果实成熟软化,"菲尔杜德"和"哈瑞太兹"2 个品种原果胶的含量在着色期前均表现为上升,之后下降,可溶性果胶呈现逐渐上升趋势,而纤维素含量则表现为降低趋势;2 个品种的 PG、PME、纤维素酶、 β -Gal 的活性在可采成熟期前均表现为上升趋势,尤其品种"菲尔杜德"PG 活性在着色期到可采成熟期这段果实迅速软化期间呈极显著

上升,而从可采成熟期到过熟期,2 个品种的 PG 活性为下降,而其它 3 种酶仍表现为上升趋势。

果胶和纤维素是植物细胞胞间层和初生壁的主要成分,果胶多糖和纤维素的降解导致胞壁空间结构崩溃、果肉细胞分离被认为是果实质地变软的主要原因^[11]。该研究的分析结果表明,着色期前树莓果实原果胶含量表现为上升,着色期后呈显著的下降趋势,而可溶性果胶含量在整个生长发育期间一直持续增加,这和李萍等^[12]、刘剑峰等^[13]在梨和新疆杏上的研究结果基本一致。纤维素的含量也表现为持续降低,品种"哈瑞太兹"变化明显,而品种"菲尔杜德"降低缓慢。前期对品种"菲尔杜德"的超微结构观察也表明,在果实发育后期(着色期后)果肉细胞细胞壁的"夹心"结构就出现消失,细胞壁严重变形^[14]。说明在相关细胞壁软化酶的作用下,高分子量的原果胶逐渐转变为低分子量的可溶性果胶、纤维素的降解导致细胞壁结构的变化可能是导致树莓果实软化的主要因素。

目前在果实中已经发现了多种果胶降解酶,但报道较多的主要有半乳糖醛酸酶(PG)、果胶甲酯酶(PME)和 β -半乳糖苷酶(β -Gal)^[15],纤维素的降解认为主要是由于纤维素酶作用的结果。对 PG、PME 和纤维素的研究结果表明其活性和所起的重要作用还存在作物种类、品种以及发育时期的差异性,目前在不同的作物中还存在一些相反的报道。该试验结果表明,在树莓可采成熟期这 4 种酶的活性均表现为升高,但在着色期前增长相对较为缓慢。从着色期到可采成熟期 PG 和 PME 活性增长较快,尤其是品种"菲尔杜德",增长幅度较大,而此期纤维素酶增长相对平缓,品种"菲尔杜德"的 β -Gal 活性增长幅度小,而品种"哈瑞太兹"相对显著。从可采成熟期到过熟期,除 PG 表现为降低外,其余 3 种酶的活性仍表现为显著增长。表明这 4 种酶都参与了树莓果实细胞壁多糖成分的降解,但从着色期到可采成熟期这段果实迅速变软期间似乎 PG 酶起的作用要更大一些,而到过熟阶段是其余 3 种酶在起作用,说明在树莓果实的不同发育阶段不同的酶所起作用可能不同。

参考文献

- [1] 宣景宏,孟宪军,刘春菊,等. 树莓的主要功效成分及开发利用前景[J]. 中国果业信息,2007,24(1):26-28.
- [2] 鄂利东. 树莓生产问题与发展对策[J]. 新农业,2011(2):26-27.
- [3] 钱春,张兴国,梁国鲁. 草莓果实成熟软化相关基因研究进展[J]. 中国蔬菜,2009(22):6-12.
- [4] 金昌海,索标,阚娟,等. 桃果实成熟软化过程中细胞壁多糖降解特性的研究[J]. 扬州大学学报,2006,27(3):70-75.
- [5] 张鹏龙,陈复生,杨宏顺,等. 果实成熟软化过程中细胞壁降解研究进展[J]. 食品科技,2010,35(11):62-66.
- [6] 刘美艳. 早熟苹果果实软化分子机理的初步研究[D]. 泰安:山东农业大学,2012.
- [7] 阚娟. 不同溶质型桃果实成熟软化机理研究[D]. 扬州:扬州大学,

2011.

[8] 佟兆国,王飞,高志红,等. 果胶降解相关酶与果实成熟软化[J]. 果树学报,2011,28(2):305-312.

[9] PRIYA-SETHU K M. Post-harvest biochemical changes associated with the softening phenomenon in *Capsicum annuum* fruits[J]. Phytochemistry, 1996,43(4):961-966.

[10] 阙娟,金昌海,汪志君,等. 苹果 β -半乳糖苷酶及多聚半乳糖醛酸酶对桃果实成熟软化的影响[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),2006,27(3):76-80.

[11] YANG Z F,ZHENG Y H,CAO S F,et al. Effects of storage temperature on textural properties of Chinese bayberry fruit[J]. Journal of Texture

Studies,2007,38:166-177.

[12] 李萍,廖康,赵世荣,等. 杏果实发育成熟过程中细胞壁组分和水解酶活性的变化[J]. 新疆农业大学学报,2013,36(4):298-303.

[13] 刘剑锋,李国怀,彭抒昂,等. 秋子梨的果皮结构与果实的耐贮性[J]. 园艺学报,2007,34(4):1007-1010.

[14] 杨国慧,王冰,谢娟,等. 树莓果实显微及超显微结构观察[J]. 湖北农业科学,2015,54(8):1919-1922.

[15] CALLAHAN A M,SCORZA R,BASSETT C,et al. Deletions in an endopolygalacturonase gene cluster correlate with non-melting flesh texture in peach[J]. Functional Plant Biology,2004,31(2):159-168.

Change of Cell Wall Components and Related Enzyme Activities During the Development Process of Raspberry Fruit

YANG Guohui,LYU Bingyu,HAN Deguo,GE Qiulai,ZHANG Yan,SHI Yingxiao

(College of Horticulture/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops of Northeast Region, Ministry of Agriculture,Northeast Agricultural University,Harbin,Heilongjiang 150030)

Abstract: ‘Henritage’ of autumn type and ‘Fertod Zamatos’ of summer fruited type were used as experimental materials in this study. The raspberry fruits were collected on 7 days after flowering(the green fruiting enlargement period),14 days (turning white period),21 days(coloring period),24 days(mature period) and 27 days(overmature period), respectively. The contents of original pectin,pectin,cellulose and related enzyme activities of raspberry fruits were measured. The results showed that during the maturity and softening process of fruit,the protopectin content rose before coloring period, then declined. Soluble pectin content in fruit was gradually increased,but the cellulose content had a decreasing trend. The enzyme activities of polygalacturonase,pectin methylesterase,cellulase and β -galactosidase had the rising trend before mature period,especially the polygalacturonase activity increased rapidly from coloring period to maturity. From mature period to overmature,only the polygalacturonase activity declined,by contrast,other three enzymes activity still showed the rising trend.

Keywords: raspberry;fruit development;cell wall composition;enzyme

树莓的营养价值

知识窗

树莓果味甜美,含糖、苹果酸、柠檬酸及维生素 C 等营养物质,可供生食、制果酱及酿酒等。树莓果实所含的各种营养成分易被人体吸收,而且具有促进人体对其它营养物质的吸收、改善新陈代谢及增强抗病力的作用。据试验分析可知:每 100 g 树莓鲜果含水分 84.2 g、蛋白质 0.2 g、脂肪 0.5 g、碳水化合物 13.6 g、纤维 3 g、灰分 0.5 g、钙 22 mg、磷 22 mg、镁 20 mg、钠 1 mg、钾 168 mg、维生素 A 130 国际单位、维生素 B₁ 0.03 mg、维生素 B₂ 0.09 mg、烟酸(维生素 PP)0.9 mg、维生素 C 25 mg、维生素 B₉ 0.2~0.25 mg、维生素 P 240 mg。由于树莓浆果所含的糖、有机酸、维生素 C、维生素 P、维生素 B₉ 与造血化合物协调地结合,使树莓成为有利于防病、治病的药物食品。因此,树莓在国内外市场上的利用空间越来越广阔,从鲜食到深加工呈现出生机勃勃的发展潜力。

(来源:百度百科)