

doi:10.11937/bfyy.20171937

影响石榴籽硬度相关因素的分析

张立华, 朱晓梅, 徐加喜, 吕 慧

(枣庄学院 生命科学学院, 山东 枣庄 277160)

摘 要:以 9 个代表性石榴品种为试材, 分别采用氧化还原滴定法、称重法及游标卡尺测量法测定了石榴种皮纤维素、木质素含量和种皮厚度, 使用硬度计测定籽粒的硬度, 并分析了 3 种指标与石榴籽硬度之间的皮尔森相关系数, 以探讨石榴籽硬度的影响因素, 为石榴资源开发利用及石榴品种选育提供参考。结果表明: 不同石榴品种之间籽粒硬度、种皮纤维素、木质素含量及种皮厚度存在着一定差异; 籽粒硬度与种皮纤维素、木质素含量及种皮厚度均呈正相关, 相关系数分别为 0.936、0.965 和 0.994, 其中种皮厚度与硬度的相关性最显著, 其次是木质素含量和纤维素含量; 表明石榴籽粒硬度受种皮纤维素、木质素含量以及厚度等多种因素影响, 其中种皮厚度是最重要的影响因素。

关键词:石榴; 籽粒硬度; 纤维素; 木质素; 种皮厚度

中图分类号:S 665.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)23-0047-05

石榴(*Punica granatum* L.)属石榴科石榴属落叶灌木或小乔木, 果实酸甜可口, 含有丰富的天然活性物质, 具有较高的保健价值^[1]。石榴的食用品质受多方面因素影响, 其中石榴籽粒的硬度是影响石榴食用品质的重要指标。硬籽石榴给食用带来不便, 研究者对石榴籽粒硬度的相关研究越来越关注, 尤其石榴籽粒硬度形成的影响因素和软籽石榴的选育方面。汪小飞等^[2]采用硬度计分析了国内 36 个石榴品种的籽粒硬度, 硬度在 2.9~4.6 kg·cm⁻², 品种间籽粒硬度差异显著;

薛辉^[3]研究了不同肥料对“突尼斯”软籽石榴籽粒硬度的影响, 发现多施磷肥可以明显降低石榴种子的硬度; 陆丽娟等^[4]研究发现同一植株不同方位的果实籽粒硬度不同, 树冠北面和内堂的果实种子较软, 南面和西南面较硬, 东面居中; 薛辉等^[5]还研究了“豫大籽”和“突尼斯”2 个石榴品种在不同发育时期种皮木质素含量与硬度的关系, 认为种子硬度与木质素含量呈正相关; 张水明等^[6]通过分析 6 个品种的石榴籽粒硬度与种子总木质素含量的关系, 也得出相同的结论, 说明石榴籽粒硬度可能受到多种因素的影响。

石榴的内种皮(硬的种壳部分)由石细胞组成, 主要成分是纤维素、半纤维素和木质素, 现有研究表明木质素含量与籽粒硬度呈正相关性^[5-6], 纤维素含量和种皮厚度对籽粒硬度的影响, 以及影响程度是否相同, 这些问题尚鲜见报道。该

第一作者简介:张立华(1968-), 男, 山东枣庄人, 博士, 教授, 研究方向为植物资源开发及采后生理。E-mail: chinazhanglh@163.com.

基金项目:山东省重点研发计划资助项目(2016GSF202010); 国家大学生创新创业训练资助项目(201610904052)。

收稿日期:2017-07-13

and the pollen germination rate of ‘Lyuling’ walnut on this medium reached 61.06%; the optimum medium for ‘Lyubo’ walnut pollen germination was as follows, 160 g·L⁻¹ sucrose, 0.07 g·L⁻¹ boric acid, 0.20 g·L⁻¹ calcium chloride, and the pollen germination rate of ‘Lyubo’ walnut on this medium reached 72.71%.

Keywords: walnut; pollen; medium

试验选择了9个具有代表性的石榴品种,比较研究纤维素、木质素含量以及种皮厚度与其硬度之间的相关性大小,为石榴籽资源开发利用及石榴品种的选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

石榴果实采自枣庄石榴资源圃(平原壤土,5年树龄),品种有‘蒙自甜’‘甜绿籽’‘大马牙’‘大青皮酸’‘大红袍’‘小青皮甜’‘红宝石’‘大青皮甜’‘秋艳’,共计9个品种,每个品种随机选取完全成熟的果实30个,剥离出籽粒,去除外层假种皮,洗净,65℃烘干,备用。

供试试剂:重铬酸钾(基准试剂);浓硫酸(优级纯);其它试剂均为国产分析纯。

供试仪器:TDL-40B低速台式大容量离心机(上海安亭科学仪器厂制造);GY-3水果硬度计(上海越平科学仪器有限公司);FA1104电子分析天平(尤尼柯仪器有限公司);0~150 mm游标卡尺(通和量具有限公司)。

1.2 项目测定

1.2.1 籽粒硬度测定

选用GY-3型水果硬度计进行硬度测定,每个品种测定种子200粒,结果取平均值。

1.2.2 种皮厚度测定

每个品种随机取200粒石榴籽,用剪刀将其从中间横向剪开,除去种仁。用游标卡尺^[7]分别测得每个石榴籽钝头种皮三边的厚度,测量3次,记录数据,取平均值。

1.2.3 石榴种皮的预处理

参考文献[8]将石榴种皮与种仁分离,分离出的种皮使用粉碎机粉碎,过40目筛,备用。

1.2.4 种皮纤维素含量测定

称取0.50 g石榴种皮粉末于25 mL刻度试管中,加入醋酸和硝酸混合液(体积比1:1)15 mL,盖上盖于沸水浴中加热30 min,全部转至塑料刻度离心管(容量为50 mL)中,加蒸馏水稀释至30 mL,冷却后以4 000 r·min⁻¹的转速离心15 min,去除上清液,再加蒸馏水至30 mL后离心去上清液,以同样的方法再洗一次后于烘箱80℃烘干。

取1/5烘干样加入混合液(溶液中硫酸的质量分数为10%;重铬酸钾浓度为0.1 mol·L⁻¹)10 mL,摇匀后沸水浴15 min,全部转入干净的锥形瓶中冷却后滴定。加入质量分数为20% KI溶液5 mL,用0.2 mol·L⁻¹的硫代硫酸钠滴定至溶液刚显蓝色且30 s内不变色,另作一未加样品的空白。每个石榴样品重复测定3次,取其平均值。纤维素含量 $X(\%) = K(a-b)/24n \times 100$,式中: K 为硫代硫酸钠浓度(mol·L⁻¹); a 为空白滴定所耗硫代硫酸钠体积(mL); b 为溶液所耗硫代硫酸钠体积(mL);24为1 mol C₆H₁₀O₅相当于硫代硫酸钠的摩尔数; n 为石榴种皮粉末质量(g)^[9]。

1.2.5 种皮木质素含量测定

准确称取石榴种皮粉末1.00 g(W_1),置于烧杯中,加入72% H₂SO₄ 15 mL,充分混匀,室温放置2 h后将该混合液移至三角烧瓶中,加水300 mL,沸水浴回流2 h,用已恒重(W_2)的砂芯漏斗减压过滤,再将盛有木质素的砂芯漏斗放到烘箱中105℃烘至恒重(W_3),每个石榴品种的样品重复测定3次,取其平均值^[10]。木质素含量 Lignin (%) = $(W_3 - W_2)/W_1 \times 100$ 。

1.3 数据分析

试验数据采用SPSS 22.0统计软件进行最小显著差数法测验(LSD法),并进行方差及相关性分析。

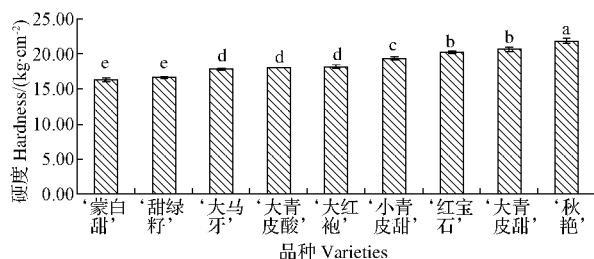
2 结果与分析

2.1 不同品种石榴籽粒硬度

由图1可以看出,不同石榴品种的籽粒硬度之间存在着一定的差异。9个品种的石榴籽粒硬度均在16~22 kg·cm⁻²,其中,‘秋艳’硬度最大,为21.81 kg·cm⁻²,与其它品种存在显著差异;而‘甜绿籽’‘蒙自甜’的最小,仅为16.68、16.32 kg·cm⁻²;‘大青皮甜’‘红宝石’‘小青皮甜’‘大红袍’‘大青皮酸’‘大马牙’分别为20.73、20.28、19.39、18.18、17.94、17.84 kg·cm⁻²。

2.2 不同品种石榴籽粒内种皮厚度

由图2可以看出,不同品种石榴籽粒内种皮厚度存在一定的差异,某些品种间差异不显著。



注:不同小写字母代表差异显著, $P < 0.05$ 。下同。

Note: Different lowercase letters represent for significant difference, $P < 0.05$. The same as follows.

图 1 不同品种石榴籽粒硬度

Fig. 1 Hardness of different varieties of pomegranate seeds

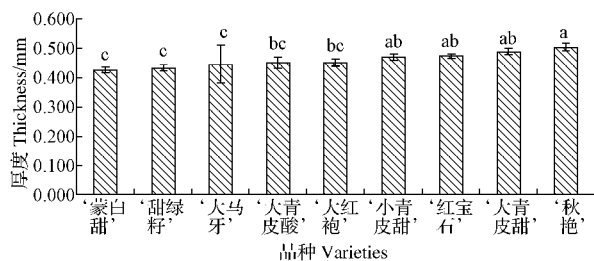


图 2 不同品种石榴籽粒内种皮厚度

Fig. 2 Different varieties of pomegranate seeds in the seed coat thickness

‘秋艳’‘大青皮甜’‘红宝石’‘小青皮甜’‘大红袍’‘大青皮酸’‘大马牙’‘甜绿籽’‘蒙自甜’的种皮厚度分别为 0.487、0.473、0.468、0.451、0.449、0.445、0.433、0.426 mm。

2.3 不同品种石榴籽粒内种皮纤维素含量

由图 3 可知,不同石榴品种籽粒内种皮纤维素含量之间存在着显著的差异。9 个品种的石榴籽粒内种皮纤维素含量均在 26% 以上,其中,‘秋艳’的纤维素含量最高,为 55.70%,显著高于其它品种;而‘蒙自甜’的纤维素含量最低,仅为 25.64%;‘大青皮甜’‘红宝石’‘小青皮甜’‘大红袍’‘大青皮酸’‘大马牙’‘甜绿籽’的纤维素含量分别为 42.80%、41.87%、40.75%、39.33%、38.10%、30.70%、26.10%。

2.4 不同品种石榴籽粒内种皮木质素含量

从图 4 可以看出,不同品种石榴籽粒内种皮

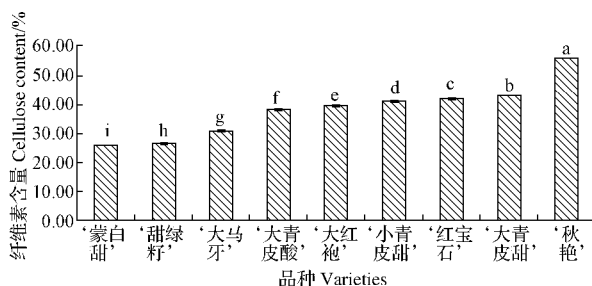


图 3 不同品种石榴籽粒内种皮纤维素含量

Fig. 3 Types of cellulose content in different varieties of pomegranate seeds

木质素含量存在一定的差异。9 个品种的石榴籽粒内种皮木质素含量在 23%~33%,其中,‘秋艳’的木质素含量最高,为 32.16%,显著高于其它品种;‘甜绿籽’和‘蒙自甜’的木质素含量最低,分别为 24.20%、23.60%;‘大青皮甜’‘红宝石’‘小青皮甜’‘大红袍’‘大青皮酸’‘大马牙’的木质素含量分别为 30.50%、29.74%、28.94%、28.18%、28.06%、26.71%。

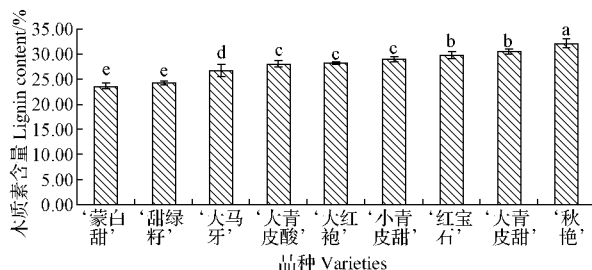


图 4 不同品种石榴籽粒内种皮木质素含量

Fig. 4 Types of lignin content in different varieties of pomegranate seeds

2.5 石榴籽粒硬度与石榴内种皮纤维素、木质素含量及种皮厚度之间相关性分析

对 9 个品种石榴籽粒硬度与石榴内种皮纤维素、木质素含量及种皮厚度之间的相关性进行比较分析见表 1,石榴籽粒硬度与各指标之间均存在极显著的相关性。这也证明了石榴籽粒硬度受石榴种皮纤维素、木质素含量及种皮厚度等多种因素的影响,其中种皮厚度是影响石榴籽粒硬度的最重要因素。

表1 石榴籽粒硬度与石榴内种皮纤维素、木质素含量及种皮厚度之间相关性分析

Table 1 Correlation analysis between seed hardness of pomegranate and seed coat cellulose content, lignin content and thickness

指标 Item	硬度 Seed hardness	种皮厚度 Seed coat thickness	木质素含量 Lignin content	纤维素含量 Cellulose content
硬度 Seed hardness	1	0.994**	0.965**	0.936**
种皮厚度 Seed coat thickness		1	0.961**	0.945**
木质素含量 Lignin content			1	0.967**
纤维素含量 Cellulose content				1

注:**表示相关性在0.01水平上显著(双尾)。

Note:** shows significant correlation at the 0.01 level(double tail).

3 讨论与结论

石榴籽粒在解剖学上就是石榴的“种子”,外层浆液多汁的可食用部分为其外种皮,较坚硬的种壳为其内种皮,里面是种仁。内种皮由石细胞组成,石细胞次生壁加厚,成分主要以纤维素、半纤维素和木质素为主。纤维素、半纤维素为某些单糖链状排列的多聚体,不溶于水,在细胞壁中按一定方式排列成网状结构,形成了细胞壁的支架系统^[11]。木质素是一种无定形的、分子结构中含有氧代苯丙醇或其衍生物结构单元的芳香性高聚物,填充于纤维素、半纤维素分子之间,连结纤维素、半纤维素,使植物组织硬度增加、机械支持作用加强^[5,12]。

如前言所述,石榴籽粒硬度受多种因素影响,该试验分析了石榴籽粒硬度与其内种皮纤维素含量、木质素含量及厚度的相关性,相关系数分别为0.936、0.965和0.994,表明此3种因素与籽粒硬度均存在正相关。但三者间存在一定差异,其中,种皮厚度与籽粒硬度之间相关性最强,其次是木质素含量,最小的是纤维素含量,说明石榴籽粒硬度受种皮厚度影响大。在这3种因素中,对木质素的研究相对较多,如DALIMOV等^[13]指出石榴种皮中含有较多的木质素,是影响种子硬度的主要成分。韩国粉^[14]通过对软核山楂与硬核山楂基因表达差异分析及木质素合成相关转录因子基因的克隆与鉴定得出,大部分与木质素生物合成相关的基因在‘开原软籽’中转录水平显著下调。赵书岗等^[15]在对核桃坚果硬壳结构的影响因子的研究中指出木质素沉积较多,增加了壳的机械强度。相关研究均认为木质素含量是影响籽粒或种子硬度的重要因素。对纤维素与籽粒硬度

关系的研究相对较少,薛辉^[3]研究了硬籽石榴纤维素合成相关基因的表达情况,结果显示表达水平较高,说明纤维素含量也是影响籽粒硬度的因素之一。对种皮厚度会影响其硬度的原理是很容易被理解的,在其质地不变的情况下,厚度增大硬度会增加。FRCZEK等^[16]通过对不同植物种子的种皮厚度与硬度进行测定,认为种皮厚度是种子硬度产生的一个主要因素。赵悦平等^[17]研究结果显示不同核桃品种坚果硬壳厚度存在差异,硬壳厚度与其硬度呈极显著正相关。对影响石榴籽粒硬度的影响因素研究多集中在种皮的木质素方面,而对另一个最重要的因素—内种皮厚度未引起研究者的重视,可推断通过调控种皮厚度形成相关基因的表达,从而改变种皮厚度,开展软籽石榴的育种工作,应该是一个可行的方向。

该研究对石榴籽粒硬度的测定采用的是GY-3型水果硬度计,所测硬度数据范围在16.32~21.81 kg·cm⁻²,而陆丽娟等^[4]使用YD-1型硬度计所测石榴籽粒硬度范围在1.7~5.0 kg·cm⁻²,有少量种子硬度大于5.0 kg·cm⁻²。与该试验数据有较大差别,可能是因为所使用的硬度计型号不同所致。但该试验对所有样品测定使用同一硬度计相同方法测定,所得数据之间具有可比性。

综上所述,石榴籽粒硬度受石榴种皮纤维素、木质素含量及种皮厚度等多种因素的影响,其中种皮厚度是影响石榴籽粒硬度的最重要因素。

参考文献

- [1] 毕晓菲,李勇. 石榴化学成分及其保健功能的研究进展[J]. 现代农业科技, 2010, 16(22): 356-357, 360.
- [2] 汪小飞,周耘峰,赵昌恒,等. 36个石榴(*Punica granatum* L.)品种的品质测定[J]. 热带作物学报, 2010, 31(1): 136-140.
- [3] 薛辉. 软籽石榴种子硬度的影响因素及转录组分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.

- [4] 陆丽娟,巩雪梅,朱立武. 中国石榴品种资源种子硬度性状研究[J]. 安徽农业大学学报,2006,33(3):356-359.
- [5] 薛辉,曹尚银,陈利娜,等. ‘豫大籽’与‘突尼斯’石榴的种子结构及硬度比较[J]. 果树学报,2016,33(5):563-569.
- [6] 张水明,龚凌燕,曹丹琴,等. 石榴种皮总木质素含量及 *PgCOMT* 基因的克隆与表达[J]. 热带亚热带植物学报,2015,23(1):65-73.
- [7] 邹珺. 不同干燥程度石榴籽的物理性质研究[J]. 食品与发酵科技,2015,51(2):55-62.
- [8] 张立华. 一种石榴种仁油的生产方法:CN103409226A[P]. 2013-11-27.
- [9] 王金主,王元秀,李峰,等. 玉米秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的测定[J]. 山东食品发酵,2010,16(158):44-47.
- [10] 方赤光,刘思洁,张冠英,等. 吉林省生晒参参与红参中木质素含量的测定[J]. 农业与技术,2011,31(6):50-52.
- [11] 周云龙. 植物生物学[M]. 北京:高等教育出版社,2010;32.
- [12] 靳丽鑫,陈梦华,王玉莲,等. 核桃坚果硬壳发育研究进展[J]. 北方园艺,2015(16):183-187.
- [13] DALIMOV D N, DALIMOVA G N, BHATT M. Chemical composition and lignins of tomato and pomegranate seeds[J]. Chemistry of Nature Compounds,2003,39(1):37-40.
- [14] 韩国粉. 软核山楂与硬核山楂基因表达差异分析及木质素合成相关转录因子基因的克隆与鉴定[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2014.
- [15] 赵书岗,赵悦平,王红霞,等. 核桃坚果硬壳结构的影响因子[J]. 林业科学,2011,47(4):70-75.
- [16] FRCZEK J, HEBDAL T, DLIPEK Z, et al. Effect of seed coat thickness on seed hardness[J]. Can Biosyst Eng, 2005, 47(4):1-5.
- [17] 赵悦平,赵书岗,王红霞,等. 核桃坚果壳结构与核仁商品品质的关系[J]. 林业科学,2007,43(12):81-85.

Related Factors Affecting Hardness of Pomegranate Seed

ZHANG Lihua, ZHU Xiaomei, XU Jiayi, LYU Hui

(College of Life Science, Zaozhuang University, Zaozhuang, Shandong 277160)

Abstract: In order to explore the influencing factors of hardness of pomegranate seed, 9 representative cultivars of pomegranate were selected for research. Cellulose and lignin content of pomegranate seed and seed coat thickness were measured respectively by redox titration, weighing method and method for determination of vernier caliper, using hardness determination of grain hardness, and the Person's correlation coefficients were analyzed between the 3 indicators and seed hardness of pomegranate. The results showed that seed coat thickness, testa cellulose, lignin content, and thickness between various pomegranate cultivars existed some differences. A certain positive correlation existed between grain hardness and testa cellulose, lignin content, seed coat thickness, correlation coefficient of 0.936, 0.965, 0.994, respectively, the most significant correlation between seed coat thickness and hardness, followed by the content of lignin and cellulose content. It indicated that testa cellulose, lignin content and thickness were the important factors affecting hardness of pomegranates, and the thickness was the most one.

Keywords: pomegranate; seed hardness; cellulose; lignin; seed coat thickness