

网络出版时间:2015-03-12 14:17 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2015.04.028
网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150312.1417.028.html>

甜瓜‘黄醉仙’果实采后软化过程中 细胞壁水解酶的变化

张 敏,王爱玲,杨 军,杜 娟,廖新福

(新疆维吾尔自治区葡萄瓜果研究所,新疆 鄯善 838200)

[摘 要] **【目的】**研究甜瓜品种‘黄醉仙’果实采后用 1-MCP 处理后细胞壁水解酶的变化规律,为提高其商品性、延长其货架期提供参考。**【方法】**以达到商品成熟度的‘黄醉仙’甜瓜果实为试材,用 1 μ L/L 1-MCP 室温熏蒸 24 h 后常温贮藏,以不处理果实为对照,测定果实硬度及 β -半乳糖苷酶 (β -Gal)、 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α -Af)、纤维素酶、多聚半乳糖醛酸酶 (PG)、果胶甲酯酶(PME)活性,分析‘黄醉仙’果实的软化机制。**【结果】**‘黄醉仙’果实采后硬度降低,经 1-MCP 处理后果实的硬度显著高于对照;对照果实 β -Gal、 α -Af、纤维素酶活性分别在采后 1,5,6 d 达到最高,而 1-MCP 处理果实 β -Gal、 α -Af、纤维素酶活性峰值均在采后 10 d 出现;对照果实 PG 活性在采后 4 d 达到最高,1-MCP 处理果实在采后 8 d 达到最高;对照果实 PME 活性持续下降,1-MCP 处理果实 PME 活性高于对照。**【结论】**甜瓜‘黄醉仙’果实采后软化是 β -Gal、 α -Af、PG、PME、纤维素酶共同作用的结果,其中, β -Gal 和 PME 主要参与早期成熟,而 PG、纤维素酶、 α -Af 则影响中后期成熟软化;1-MCP 抑制了 β -Gal、 α -Af、纤维素酶、PG 活性,延缓了 PME 活性的下降趋势,这可能也是 1-MCP 能对果实进行保鲜的原因之一。

[关键词] 甜瓜;采后生理;细胞壁水解酶;1-MCP

[中图分类号] S652.301 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2015)04-0113-05

Changes of cell wall degrading enzymes during post-harvest softening of melon ‘Huangzuixian’

ZHANG Min,WANG Ai-ling,YANG Jun,DU Juan,LIAO Xin-fu

(Xinjiang Grapes and Melons Research Institute,Shanshan,Xinjiang 838200,China)

Abstract: **【Objective】** This study investigated the changes of cell wall degrading enzymes after fruits of melon ‘Huangzuixian’ were harvested and treated by 1-MCP to provide information for marketability improving and shelf-life extending. **【Method】** Fruits of melon ‘Huangzuixian’ harvested at commercial maturity were treated with 1 μ L/L 1-MCP for 24 hours before being stored at room temperature. Fruit firmness and activities of β -galactosidase (β -Gal), α -L-arabinofuranosidase (α -Af), cellulase, polygalacturonase (PG), and pectinesterase (PME) during the softening process were measured and analyzed. **【Result】** Fruit firmness decreased throughout the experimental period, and firmness of fruits treated with 1-MCP was significantly higher than the control. Activities of β -Gal, α -Af, cellulase, and PG peaked at 1 d, 5 d, 6 d, and 4 d after harvest while those of 1-MCP treated fruits peaked at 10 d, 10 d, 10 d, and 8 d after harvest, respectively. PME activities of fruits in both control and 1-MCP treatment declined, but 1-MCP treatment had higher levels. **【Conclusion】** Softening of melon ‘Huangzuixian’ fruits resulted from interactions of β -Gal, α -

[收稿日期] 2013-11-18
[基金项目] 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-26-21)
[作者简介] 张 敏(1983—),女,陕西高陵人,农艺师,硕士,主要从事甜瓜采后研究。E-mail:minz@sina.cn
[通信作者] 廖新福(1960—),男,新疆石河子人,研究员,硕士生导师,主要从事西瓜、甜瓜育种与栽培研究。

Af,PG,PME,and cellulose. PME and β -Gal contributed to the initiation of softening,while PG, α -Af and cellulase remarkably contributed to middle and later fast-softening. 1-MCP inhibited the activities of β -Gal, α -Af,PG and cellulose and slowed the decrease of PME activity. This was one possible reason why 1-MCP could keep fruits fresh.

Key words: melon; post-harvest physiology; cell wall degrading enzymes; 1-MCP

甜瓜品种‘黄醉仙’以其外观金黄、肉质细软、香气浓郁而深受消费者的喜爱。但该品种采后易过度软化,使其只能在生产地附近消费,限制了其商品性和货架期。果实软化是一个程序化发育的成熟进程,与多聚半乳糖醛酸酶(PG)、果胶甲酯酶(PME)、 β -半乳糖苷酶(β -Gal)等引起的细胞壁成分水解有关^[1]。Brummell等^[2]认为,在果实成熟早期, β -Gal可能限制或者控制着引起果实软化的其他成熟相关酶的活性。 β -Gal和 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α -Af)活性与苹果果实质地软化及细胞壁组分的变化相关性显著,果实耐贮性越差,2种酶活性越高^[3]。 α -Af起诱导桃、香蕉果实成熟的作用,在果实软化中作用明显^[4-6]。桃果实硬度与PG和纤维素酶活性呈极显著负相关^[7]。目前,国内针对甜瓜软化相关水解酶的研究多集中在PG、PME、纤维素酶和 β -Gal等^[8-11]上,对 α -Af在甜瓜软化中的作用尚鲜见报道。本研究以软化迅速的甜瓜品种‘黄醉仙’为材料,用保鲜剂1-MCP进行处理,分析 β -Gal、 α -Af、纤维素酶、PG和PME等5种重要的细胞壁水解酶在采后不同时间的活性变化,探究其在‘黄醉仙’果实软化过程中的作用,以期为提高‘黄醉仙’果实的商品性、延长其货架期提供参考。

1 材料与方法

1.1 试材及处理

甜瓜品种‘黄醉仙’(*Cucumis melo* L. ‘Huangzuixian’)来自新疆维吾尔自治区葡萄瓜果研究所基地,选取达到商品成熟度、无日灼、伤病及果型、果色一致的果实,用1 μ L/L 1-MCP 室温熏蒸 24 h后,储于温度 25 $^{\circ}$ C、相对湿度 70%的地下室。

对照每天取样 1 次,共取样 10 次;1-MCP 处理前 5 次为每天取样,第 6 次起为隔天取样,共取样 10 次。每次随机选取 12 个瓜,将样品迅速切块、混合均匀后,于-70 $^{\circ}$ C 保存。

1.2 果实硬度及细胞酶活性的测定

果实硬度用 GY-4 型果实硬度计测定,单位为“kg/cm²”;细胞壁水解酶的提取参照 Jeong 等^[12]的方法; β -Gal 活性测定按 Brummell 等^[13]的方法, α -

Af 活性测定参考 Sozzi 等^[14]的方法,分别以对硝基酚半乳糖苷和对硝基酚阿拉伯呋喃糖苷(Sigma 公司)为底物,37 $^{\circ}$ C 反应 30 min,于波长 400 nm 下定量分析酶水解生成的对硝基酚(PNP)含量,以对硝基酚作标准曲线,以每 g 鲜样每 min 水解生成 1 nmol 对硝基酚为一个酶活;纤维素酶活性通过羟甲基纤维素释放的还原端来测定^[15],其还原端以 D-葡萄糖为标准,每 g 鲜样每 h 产生相当于 1 μ g 葡萄糖的还原糖为一个酶活单位;PG 活性测定参考曹建康等^[16]的方法;PME 活性测定参照 Rastegar 等^[15]的方法,活性单位以每 g 鲜质量每 min 吸光度值(OD₆₂₀)的变化表示,即“ Δ OD₆₂₀/(g $\cdot$ min)”。

1.3 数据分析

试验数据均用 Excel 2003 进行处理,用 SAS 8.1 统计软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 甜瓜果实采后软化过程中的硬度变化

甜瓜‘黄醉仙’果实采后软化过程中的硬度变化见图 1。

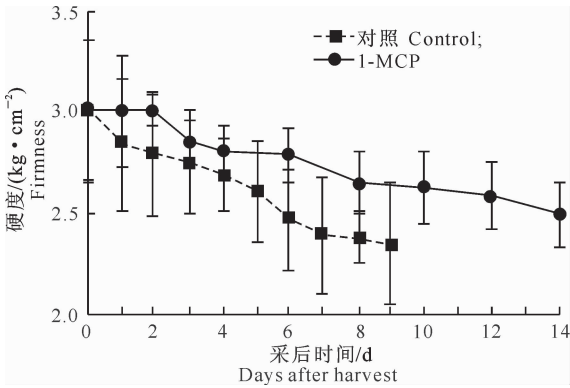


图 1 甜瓜‘黄醉仙’果实采后软化过程中的硬度变化

Fig. 1 Changes in firmness of ‘Huangzuixian’ melons during post-harvest softening

如图 1 所示,‘黄醉仙’果实采后贮藏期间硬度降低迅速,保鲜剂 1-MCP 处理显著延缓了这种趋势($P<0.05$)。果实起始硬度为 3.01 kg/cm²,采后 6 d,对照果实硬度降至 2.46 kg/cm²,下降了 18.1%;

而经 1-MCP 处理的‘黄醉仙’果实硬度则降至 2.79 kg/cm²,仅下降了 7.5%。采后 14 d 时,1-MCP 处理的‘黄醉仙’果实硬度为 2.49 kg/cm²,仍高于对照采后 6 d 的硬度水平。

2.2 甜瓜果实采后软化过程中相关酶活性的变化

β -Gal 是与细胞壁多糖组分降解相关的重要糖苷酶之一,可通过降解具有支链的多聚醛酸使细胞壁组分变得不稳定,从而使果胶降解或溶解。如图 2-A 所示,对照甜瓜‘黄醉仙’ β -Gal 的活性在采后第 1 天迅速达到峰值,之后下降;而经 1-MCP 处理后,其 β -Gal 活性一直缓慢上升,峰值在第 10 天才出

现,且峰值与对照的活性峰值相差不大,之后活性缓慢下降。可见,1-MCP 处理显著抑制了 β -Gal 的活性,但并不显著改变其活性峰值。

α -Af 作为重要的糖苷酶之一,与植物细胞壁果胶、半纤维素多聚体中阿拉伯糖支链的降解密切相关。由图 2-B 可见,对照甜瓜‘黄醉仙’ α -Af 酶活性在采后前 3 d 上升缓慢,4 d 后开始迅速上升,5 d 达到峰值,之后下降;而经 1-MCP 处理后,其活性峰值在采后 10 d 才出现,且峰值与对照峰值相当,之后活性迅速下降。可见,1-MCP 处理显著延迟了 α -Af 活性峰的出现时间,但并不改变其峰值。

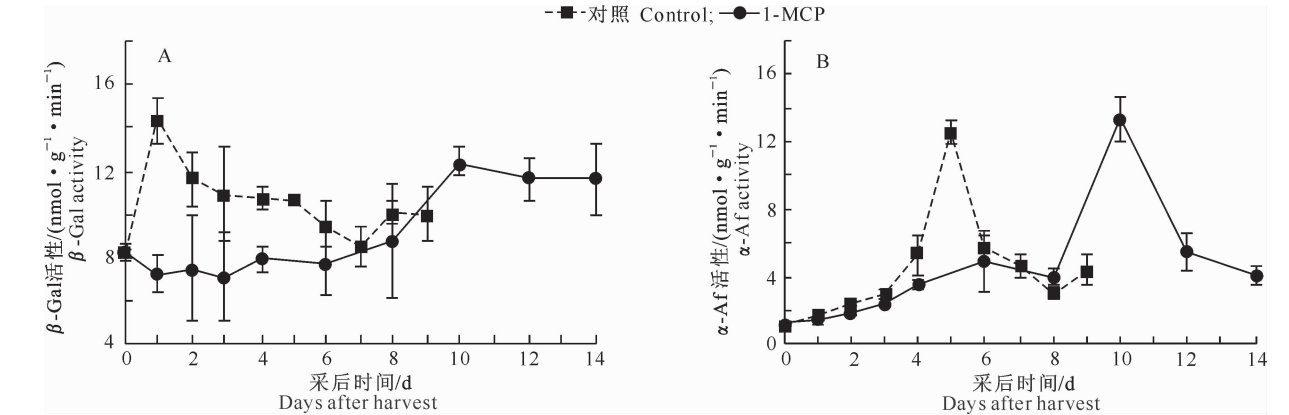


图 2 甜瓜‘黄醉仙’果实采后 β -Gal(A)和 α -Af(B)活性的变化
Fig. 2 Changes in β -Gal(A) and α -Af(B) activities of ‘Huangzuixian’ melons after harvest

从图 3-A 可见,采后贮藏期间,‘黄醉仙’对照果实纤维素酶活性迅速上升,到采后 6 d 达到峰值,之后下降,但其活性一直保持在较高水平。而经 1-MCP 处理后,其上升趋势明显减缓,活性峰值在第 10 天才出现,峰值比对照峰值明显偏低,之后活性缓慢下降,但仍处于较高的活性水平。可见 1-MCP 处理显著延迟了纤维素酶活性峰的出现时间,并降低了活性峰值。

从图 3-B 可见,采后 2 d,甜瓜‘黄醉仙’对照果实 PG 活性变化不大,采后 3 d 迅速上升,4 d 达到峰值,之后下降,但总体活性较高。而经 1-MCP 处理后,其活性峰在采后 8 d 才出现,峰值与对照峰值相当,之后活性缓慢下降,但也处于较高的活性水平。1-MCP 处理显著延迟了 PG 酶活性峰的出现时间,对其峰值影响不大。

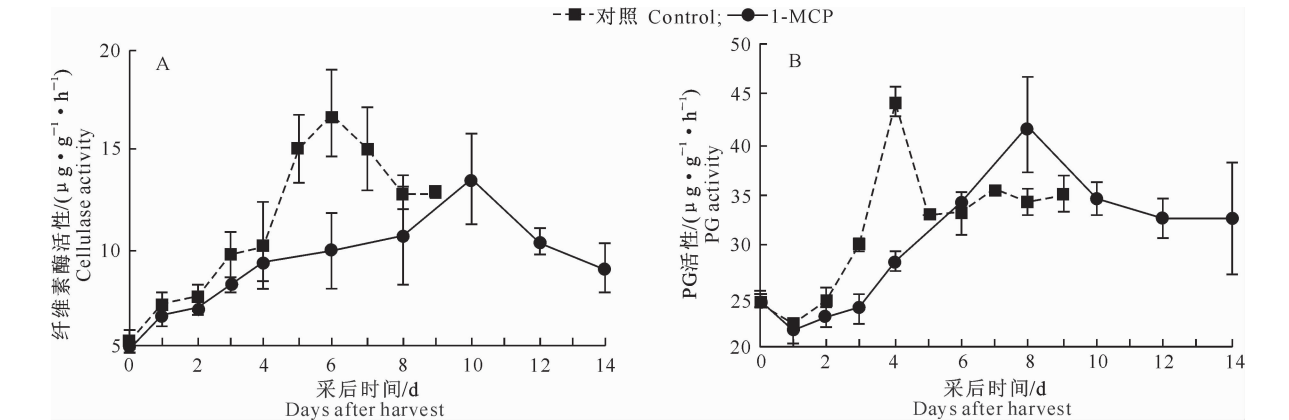


图 3 甜瓜‘黄醉仙’果实采后纤维素酶(A)和 PG(B)活性的变化
Fig. 3 Changes in Cellulase(A) and PG(B) activities of ‘Huangzuixian’ melons after harvest

从图 4 可见,在整个贮藏期,甜瓜‘黄醉仙’果实采后 PME 活性迅速下降,对照下降速度显著高于 1-MCP 处理组。1-MCP 处理显著延缓了 PME 酶活性的下降趋势。

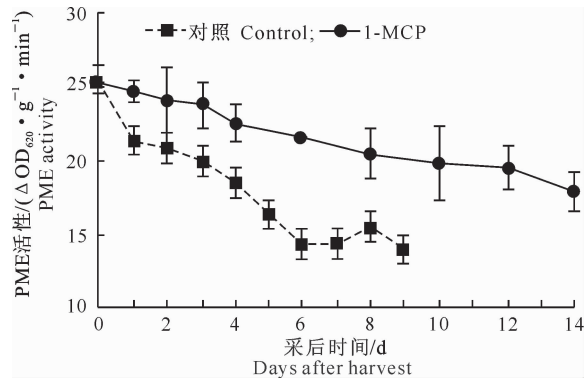


图 4 甜瓜‘黄醉仙’果实采后 PME 活性的变化
Fig. 4 Changes in PME activity of ‘Huangzuixian’ melons after harvest

3 讨 论

硬度决定着果实的品质,在果实软化过程中,细胞壁水解酶降解细胞壁组分,导致果实硬度降低。本研究选用的‘黄醉仙’是软肉型甜瓜品种,采收时硬度就不高,仅为 3.01 kg/cm²,采后其硬度迅速下降,与之呼应,β-Gal、α-Af、纤维素酶、PG 等 4 种重要细胞壁水解酶的活性逐渐上升。

在对照果实软化过程中,β-Gal 活性在采后 1 d 即达到最高,而 α-Af 活性在采后 5 d 最高,PG 活性在采后 4 d 最高,纤维素酶活性在采后 6 d 达到最高,但 PME 活性一直下降。而经过 1-MCP 处理后,β-Gal、α-Af 和纤维素酶活性高峰在采后 10 d 出现,PG 活性高峰出现在采后 8 d,4 个酶活性峰值出现时间均延迟,除纤维素酶活性峰值明显低于对照外,其余酶活性峰值与对照差异不大;而其 PME 活性缓慢下降,且高于对照。相比对照,用 1-MCP 处理过的‘黄醉仙’果实硬度明显得到了保持。

有研究表明,β-Gal 与桃果实成熟前期果实的软化启动密切相关^[13,17],而 α-Af 是桃果实成熟后期果肉软化的重要作用酶^[4,6];香蕉 α-Af 活性在果实成熟初期的变化很小,在果实硬度急剧下降时达到最大^[5];纤维素酶活性可能引起难溶性的半纤维素向易溶性的半纤维素转化,从而导致青梅果肉硬度迅速下降^[18];进入后熟软化阶段后,苹果果实 PG 活性提高^[3],桃 PG 活性高峰出现于成熟后期^[17];龙眼果肉贮藏过程中 PME 活性下降^[19]。结合本研究结

果,推测 β-Gal、PME 可能在成熟早期对于启动果实软化起作用,而 α-Af、纤维素酶、PG 在果实软化后期发挥作用。

用乙烯处理果实可促进成熟、降低硬度,因此乙烯也被称为催熟激素。乙烯在细胞质内诱导胞壁水解酶的合成并输向细胞壁,从而促进胞壁水解软化。作为乙烯强有力的竞争性抑制剂,1-MCP 的应用成为果蔬保鲜上的热点。研究表明,苹果采后 β-Gal、α-Af 活性和 PG 基因表达受 1-MCP 的强烈抑制^[3]。1-MCP 处理对鳄梨果实 PG 活性上升的抑制长达 12 d^[12];1-MCP 处理可降低番茄果实 PG 活性和果实硬度,延缓果实成熟,但 1-MCP 只是推迟成熟相关变化的进程,而并不显著改变其峰值^[20]。经 1-MCP 处理,鳄梨 PME 活性下降趋势减缓^[21-22],这与本研究结论一致。据此推测,1-MCP 可能是通过延缓果实细胞壁水解酶活性的上升而达到保持硬度的目的,从而实现延长货架期的作用。

本研究中,随着甜瓜品种‘黄醉仙’果实软化的推进,细胞壁水解酶活性上升。但果实软化是一个复杂的过程,仍需结合细胞壁成分变化、细胞超微结构等来进一步阐明。

[参考文献]

[1] Payasi A, Mishra N N, Chaves A L S, et al. Biochemistry of fruit softening: An overview [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2009, 15(2): 103-113.

[2] Brummell D A, Harpster M H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants [J]. Plant Molecular Biology, 2001, 47(1): 311-339.

[3] 魏建梅. 苹果(Malus domestica Borkh.)果实质地品质发育及采后调控的生理和分子基础 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2009.

Wei J M. Study on physiological and molecular mechanism of fruit texture development and post-harvest regulation of apple (Malus domestica Borkh.) [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2009. (in Chinese)

[4] 索 标. 桃果实软化过程中细胞壁多糖降解特性的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2006.

Suo B. Studies on degradation characteristic of cell-wall polysaccharide during peach fruit ripening [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2006. (in Chinese)

[5] Zhuang J P, Su J, Li X P, et al. Changes in α-L-arabinofuranosidase activity in peel and pulp of banana(Musa sp.) fruits during ripening and softening [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2007, 33(2): 131-136.

[6] 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.

Kan J. Study on mechanism of ripening and softening of peach

- fruit [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2011. (in Chinese)
- [7] 胡留申,董晓颖,李培环,等. 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 [J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(5): 837-841.
- Hu L S, Dong X Y, Li P H, et al. 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 [J]. Plant Physiology Communications, 2007, 43(5): 837-841. (in Chinese)
- [8] 孙爱萍. 1-甲基环丙烯延缓采后甜瓜果实衰老的研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2009.
- Sun A P. A study on 1-methylcyclopropene delay postharvest senescence of Hami melon fruit [D]. Urumqi: Xinjiang Agriculture University, 2009. (in Chinese)
- [9] 吕双双,李天来,吴志刚,等. 采前喷钙和采后浸钙对网纹甜瓜采后果实软化生理的影响 [J]. 江苏农业学报, 2009, 25(2): 346-350.
- Lü S S, Li T L, Wu Z G, et al. Effect of pre-harvest and post-harvest calcium treatments on muskmelon softening physiology [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2009, 25(2): 346-350. (in Chinese)
- [10] 吕双双. 钙调控乙烯诱导网纹甜瓜果实软化效果及其作用机制研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2009.
- Lü S S. Study on regulation and mechanism of calcium on ethylene-induced muskmelon softening [D]. Shenyang: Shenyang Agriculture University, 2009. (in Chinese)
- [11] 马文平,倪志婧,任 贤. 1-MCP对“玉金香”甜瓜采后果实软化的作用机理 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(2): 103-108.
- Ma W P, Ni Z J, Ren X. Effect of 1-MCP on softening mechanism in “Yujinxiang” melon fruit during storage [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2012, 40(2): 103-108. (in Chinese)
- [12] Jeong J, Huber D J, Sargent S A. Influence of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on ripening and cell-wall matrix polysaccharides of avocado (*Persea americana*) fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2002, 25(3): 241-256.
- [13] Brummell D A, Dal Cin V, Crisosto C H, et al. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(405): 2029-2039.
- [14] Sozzi G O, Frascina A A, Navarro A A, et al. α -L-Arabinofuranosidase activity during development and ripening of normal and ACC synthase antisense tomato fruit [J]. Hort Science, 2002, 37(3): 564-566.
- [15] Rastegar S, Rahemi M, Baghizadeh A, et al. Enzyme activity and biochemical changes of three date palm cultivars with different softening pattern during ripening [J]. Food Chemistry, 2012, 134(3): 1279-1286.
- [16] 曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 87-90.
- Cao J K, Jiang W B, Zhao Y M. The physiological and biochemical experimental guide of postharvest fruits and vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 87-90. (in Chinese)
- [17] 阙 娟,金昌海,汪志君,等. 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, 2006, 27(3): 76-80.
- Kan J, Jin C H, Wang Z J, et al. The effect of β -galactosidase and polygalacturonase on peach ripening and softening [J]. Journal of Yangzhou University, 2006, 27(3): 76-80. (in Chinese)
- [18] 陆胜民,席玛芳,张耀洲. 梅果采后软化与细胞壁组分及其降解酶活性的变化 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(5): 595-598.
- Lu S M, Xi Y F, Zhang Y Z. Softening of green mume flesh and changes of cell wall components and activities of their regrading enzymes during the postharvest period [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(5): 595-598. (in Chinese)
- [19] 林河通,赵云峰,席玛芳. 龙眼果实采后果肉自溶过程中细胞壁组分及其降解酶活性的变化 [J]. 植物生理与分子生物学报, 2007, 33(2): 137-145.
- Lin H T, Zhao Y F, Xi Y F. Changes in cell wall components and cell wall-degrading enzyme activities of postharvest longan fruit during aril breakdown [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2007, 33(2): 137-145. (in Chinese)
- [20] Mostofi Y, Toivonen P, Lessani H, et al. Effects of 1-methylcyclopropene on ripening of greenhouse tomatoes at three storage temperatures [J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 27(3): 285-292.
- [21] Jeong J, Huber D J. Suppression of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit softening and changes in cell wall matrix polysaccharides and enzyme activities; Differential responses to 1-MCP and delayed ethylene application [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2004, 129(5): 752-759.
- [22] Thumdee S, Manenoi A, Chen N J, et al. Papaya fruit softening; Role of hydrolases [J]. Tropical Plant Biology, 2010, 3(2): 98-109.