

果实软化的胞壁物质和水解酶变化

彭丽桃¹ 饶景萍² 杨书珍² 任小林² 王俊宁²

(1. 中国科学院华南植物研究所, 广东 广州 510650; 2. 西北农林科技大学园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 果实软化通常被认为是由于胞壁水解酶如多聚半乳糖醛酸酶、果胶酯酶、纤维素酶降解胞壁物质导致。本文概述了这三种酶分子与果实软化关系的研究进展。反义基因技术证明, 这三种酶基因的任一种表达被抑制, 果实能够正常软化, 暗示果实的软化有其它因子的参与。其中由细胞内的淀粉酶和蔗糖酶引起的细胞膨压的变化及果胶的溶解可能是引起果肉软化的重要原因。

关键词: 果实软化; 胞壁降解酶; 淀粉酶; 蔗糖酶

中图分类号: Q945.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2002)03-0271-10

Changes in Cell Wall Components and Related Hydrolytic Enzymes in Fruit Softening

PENG Li-tao¹ RAO Jing-ping² YANG Shu-zhen² REN Xiao-lin² WANG Jun-ning²

(1. *South China Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;*

2. *Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forest, Yangling 712100, China*)

Abstract: Great concern is focused on fruit softening since it occurs soon after harvest. It is generally accepted that fruit softening is due to the hydrolysis of cell wall components mediated by enzymes such as polygalacturonase, pectinesterase, cellulase, etc. Advances in studies of these enzymes and their role during fruit ripening and softening are summarized. Antisense RNA transgenic fruits showed that the fruits softened normally when gene expression in each of these enzymes was inhibited, which indicated that other factors may attribute to fruit softening. Several evidences indicated that turgor change caused by amylase and invertase and the solution of pectin play role in fruit softening.

Key words: Softening; Cell wall enzymes; Amylase; Invertase

果实迅速软化是采后生理学的重点。果实成熟的一个重要特点是果肉质变软, 许多研究认为细胞壁是细胞的支撑物, 只有胞壁结构改变、胞壁成分发生降解才能导致果实软化^[1-4]。研究阐明果实软化的生理机制, 找出关键的影响因子, 有利于改善果品贮藏保鲜措施。目前对果实软化过程中的生理生化变化有了较为深入的研究, 但对果实软化的关键因子和软化机理还未完全清楚。本文综述果实软化过程中胞壁物质和水解酶变化的研究进展。

收稿日期: 2001-02-12 接受日期: 2001-05-21

1 胞壁物质的变化

果实细胞壁物质主要有纤维素、半纤维素、果胶和伸展蛋白,各组分之间通过共价键、氢键、离子键、疏水交互作用和无反应的随机填充构成细胞壁^[1]。由于胞壁物质的多糖成分复杂,而且单糖分子间的连接方式多样,分析高分子多糖极为困难。目前常用的方法是先提取多糖组分,用高压液相色谱法分离出单组分多糖,再将糖的游离羟基甲基化,进一步酸碱分离单糖,确定糖苷键的位置,这种分析方法称为甲基化分析^[1]。利用这种方法,研究者们经过多年努力,已基本弄清了胞壁大分子的组分和结构特点。

1.1 果胶

果胶是细胞壁的重要组成成分,主要存在于中胶层,初生壁中也有一部分。果胶多糖的主要成分有半乳糖、半乳糖醛酸、鼠李糖、阿拉伯糖等。**Weckler**^[1]采用甲基化分析方法结合其它方法分析后得知,果胶分子中主链为 β -1,4-糖苷键结合的半乳糖醛酸-鼠李糖的重复结构以及多聚半乳糖醛酸组成的聚合物,侧链结合有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖等分子。果胶物质不溶于乙醇,在高浓度的乙醇溶液中交联成絮状物。根据提取方式的不同,可将果胶分为水溶性果胶、离子结合性果胶和碱溶性果胶,另外还有 Na_2CO_3 溶性果胶,盐酸溶性果胶等^[3-8]。

许多研究表明,随果实成熟度增加,原果胶含量(相当于碱溶性果胶)减少,水溶性果胶增加。在仁果类果实中,“红星”苹果采后常温下1-2周水溶性果胶增加5-7倍,原果胶含量也成倍下降^[9]。欧洲梨果实软化可促进水溶性果胶、离子结合性果胶和半乳糖醛酸增加^[10]。**Ning**等^[5]比较研究欧洲梨,沙梨,白梨三个主要梨系统果实软化期间的果胶变化,发现欧洲梨“**La France**”和“**Bartlett**”品种果实成熟时可溶性果胶增加,盐酸溶性果胶明显减少,果实硬度下降很快,而“鸭梨”(白梨)和“二十世纪梨”(沙梨)成熟期间果胶变化缓慢,两品种硬度下降也很缓慢。核果类果实中,周培根等^[2]发现“海复早桃”和“白云早桃”成熟期间水溶性果胶增加,而总果胶相对稳定。油桃^[4](桃的变种)成熟后期果胶多聚物增溶(非酶作用的变化)、解聚,果胶中有半乳糖基多糖的净损失。甜樱桃^[3]成熟过程中随果实软化水溶性果胶和螯合性果胶增加。番茄在成熟过程中水溶性果胶增加,原果胶下降,而不软化的番茄突变体果实成熟过程中总糖醛酸和胞壁果胶的含量不变^[6]。值得注意的是,**Sasaka**等发现果胶的最初释放不是由于酶的作用,而是 Ca^{2+} 等金属离子在多糖连接处脱落或被替换所致。**Fishman**等^[11,12]也发现提取的果胶在透析中有分子变小的趋势。**Blackbourn**等^[13]认为,果实软化过程中细胞间连接的丧失,可来源于果胶质中游离羧基的S-腺苷甲硫氨酸甲基化,从而导致钙横向联接的相邻多糖醛酸苷的破坏。

1.2 纤维素和半纤维素

纤维素是以 β -1,4-糖苷键连接的葡萄糖的多聚物,在胞壁中形成微纤丝。半纤维素含有许多杂分子多糖,主要有木聚糖和木葡聚糖两种组分。木葡聚糖能特异与纤维素微纤丝结合,有稳定微纤丝的作用。果实软化期间的超微结构观察均发现有胞壁电子密度降低,微纤丝解聚的特点^[14]。**Harfield**将不同成熟度的胞壁成分分离,发现鳄梨果实成

熟初期有坚硬的纤维和极低的纤维素酶活性,8 d 后果肉极度软化,半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖减少,纤维素酶活性上升^[15]。田建文用生物数学的方法分析各组分对软化的贡献时发现硬度与柿子果肉粗纤维含量呈正相关^[16]。Edward 认为纤维素的最初水解对软化的启动有很重要的作用。半纤维素水解时释放的寡糖物质—寡糖素,具有强烈的生理活性,能增强植物的抗病、抗逆以及加速果实衰老^[17],有关这方面的研究正逐步深入。

2 分解细胞壁的几种主要酶及活性变化的特点

胞壁结构改变和胞壁各成分物质降解目前被认为是果肉质地下降的主要原因。这一过程与一系列水解酶有关,主要有:多聚半乳糖醛酸酶(PG, Polygalacturonase, EC, 3.1.1.15)、果胶酯酶(PE, Pectinesterase, EC, 3.1.1.11)、纤维素酶(Cellulase, EC, 3.2.1.4)及其它糖苷酶类。

2.1 多聚半乳糖醛酸酶(PG)

多聚半乳糖醛酸酶是水解果胶物质的主要酶,而且一度被认为是控制果实软化的关键酶。吴明江等发现贮藏苹果的可溶性果胶和 PG 活性随呼吸上升而上升^[18]。Xue 等^[19]证实香蕉软化和果胶酶的活性呈正相关,甜椒^[20]和草莓^[21]也有同样的特点。正常成熟番茄硬度下降最快,PG 活性迅速上升,当硬度下降达到 92.9% 时 PG 活性升高了 100%,而 *nor* 突变果硬度下降最慢,PG 仅在后熟期间检测出少量活性。陆春贵等^[22]认为 PG 活性与番茄硬度密切相关。西洋梨成熟过程中 PG 活性升高了 4-5 倍^[5],桃、白梨、柿中也有类似的情况^[2,23]。Baldwin^[24]用外源 *exo*-PG 处理跃变前的绿熟番茄,诱导产生了大量乙烯,果实成熟加快,果肉迅速软化。PG 在软化中有重要作用的主要证据有:(1)果肉软化与 PG 活性升高有明显的一致性^[9,10,23,24]。(2)体外实验中,PG 能水解从未熟果实中分离的胞壁材料^[25]。(3)未熟果的果皮组织用 PG 处理后超微结构的变化与果实成熟时超微结构变化一致^[26,27]。(4)不能正常成熟和软化的番茄突变体(*Nr*, *rin*, *nor*)中 PG 活性很低^[22]。(5)乙烯诱导跃变型果实的呼吸跃变提前,并伴有 PG 活性的上升。

但周培根等^[2]认为果胶的加溶作用引起细胞壁结构破坏可能是导致果实软化的重要原因,因为水溶性果胶含量和 PG 活性的增加滞后于果实硬度的下降。Fishmen 等^[11,12]发现原果胶的变化可在没有酶参与的情况下发生(即存在非酶介导的果胶降解)。最有说服力的是转 PG 反义基因的番茄果实中 PG 活性被抑制了 99%,果实成熟初期果肉硬度的下降与对照果一致,只是后期较对照果稍硬^[28,29],果胶解聚受到一定程度的抑制,EDTA 溶性果胶中的阿拉伯糖和半乳糖含量增加,Na₂CO₃ 溶性果胶较多,水溶性果胶较对照少。Giovanoni^[30]将 PG 基因转入番茄 *rin* 突变体植株,果肉中 PG 有很高的表达,多聚半乳糖醛酸有明显的降解,但果实并不软化。由此看来,果肉软化并非由 PG 单独控制,显然还有其它因素参与,PG 只是在软化后期发挥作用。

果实中存在外切多聚半乳糖醛酸酶(*exo*-PG)和内切多聚半乳糖醛酸酶(*endo*-PG)两种类型^[31]。软肉桃中有这两种酶,而硬肉桃中仅有外切酶活性,无内切酶活性。苹果中主要是 *exo*-PG 而无 *endo*-PG 活性,但免疫杂交法及 cDNA 探针检测结果表明,苹果中有一

定的 endo-PG 活性^[10]。硬肉桃中分离出的 exo-PG 经色谱鉴定为两种酶组成,其分子量约 66 kD。果实成熟时 exo-PG 显著增加^[10],表明 exo-PG 对硬肉桃的软化有重要作用。endo-PG 与大多数果实成熟期间可溶性果胶的增加和果肉软化密切相关^[32]。Tonutti 等^[33]证实桃在采收前的内切 PG 有 PI 5.2 和 PI 8.4 的多肽,呼吸跃变后只存在 PI 8.4 的多肽,其 exo-PG 在采前有 PI 4.9 一种多肽,跃变后此多肽的酶活性降低,出现了 PI 8.8 的多肽且此多肽的酶活性上升极快,而 Ruzzon^[34]等研究表明,桃中 endo-PG 有 PI 5.2 和 9.6 两种类型,exo-PG 有 PI 4.8 和 8.6 两种类型,酸性多肽在后熟时期下降,碱性多肽在此期上升。鳄梨正常后熟软化时,能纯化出的 PG 有 55、52、49、48、46 kD 几种不同分子量的多肽。这些同工酶等电点范围在 PI 4-7 之间,约有 7 条酶带,可见 PG 同工酶的丰富^[15]。这可能是对果实不同果胶组分及对后熟微环境的适应。

番茄一直是研究果实后熟软化的良好材料。番茄果实中至少有三种同工酶 PG₁、PG_{2A}、PG_{2B}^[35],三者结构具有相似性,均含有 46 kD 的多肽。PG₁ 热稳定性好,其分子量高于另外两种酶型,有研究认为,PG₁ 可能是 PG_{2A}、PG_{2B} 组成的异源二聚体,但还需要进一步研究。PG_{2A} 和 PG_{2B} 有抗体交叉反应。Ali^[36]认为两种同工酶的差异仅在于糖基化程度不同。Fischer 等^[10]证实两者 N-末端和 C-末端相同,去除糖苷后的蛋白在 SDS-PAGE 电泳中无差异。有证据显示 PG 的三种同工酶由同一基因编码,烟草转基因植株能表达 PG_{2A}、PG_{2B} 两种酶,反义转基因番茄果实的 PG 同工酶合成受阻^[28]。

研究者利用免疫沉淀法筛选出了 pTOM 6 编码番茄 PG 的基因,以后依次找出了桃、鳄梨、芒果的 PG 基因,不同物种的 PG 基因有一定的保守性,但还需要深入研究^[37]。

2.2 果胶酯酶(PE)

果胶酯酶的作用是去除果胶分子链上半乳糖醛酸羧基上的酯化基团(主要是羟甲基或羟乙基),增加果胶在水中的溶解度,利于 PG 作用,同时 PE 也具有其它生理作用。PE 的活性随果肉组织的软化也发生有规律的变化。樱桃成熟时,果肉持续软化,而果重、体积、可溶性固形物含量、PG 和 PE 活性均迅速上升,且 PG 活性最早出现^[38]。柿子在九月初(转黄期)PE 活性达到最高,生理成熟期 PE 活性消退。田建文认为前期柿的软化是 PE 作用的结果^[16]。西洋梨“Bartlett”和“La France”的 PE 活性快速增长与果肉的软化一致^[5],而“鸭梨”和“二十世纪梨”中 PE 活性低,软化速度也较慢。表明 PE 对果实的软化有一定的修饰作用。PE 的反义基因转入植株后,植株的生长和发育没有明显的不同,只是 PEMEU1(番茄中 PE 基因)mRNA 含量有所降低,果胶的分子量较对照高,且果汁中醛酸含量较对照高出 30%-50%,甲基化程度增加了 25%-250%^[39,40]。这从分子水平证明了 PE 的作用。

PE 的多态性在桃、番茄、香蕉、猕猴桃、白葡萄、樱桃和柠檬中均有报道^[41-43]。成熟桃果实中有三种同工酶,分子量约为 34 kD,PE2 和 PE3 只是发生了 Thr/Lys 的替换,且 PE3 的抗血清能与 PE1、PE2 反应,说明三者有很高的同源性。三者都不与伴刀豆球蛋白 ConA 发生沉淀反应,说明糖基化程度低或者不含糖基^[41]。Cameron^[42]发现柑橘汁中有对热稳定的 PE,其活性占总活性的 8.3%,分子量约为 40.1 kD,变性后为 42.7 kD。此酶能与伴刀豆球蛋白 ConA 结合,表明其含有 N-键糖基,去糖基化后分子量在 40.1-41.7 kD

之间。从红葡萄中分离的 PE 有四种,分子量在 20–40 kD 之间,其中也有热稳定的 *RGPME3*(红葡萄中的 PE 基因 3)^[43]。Graff^[39]鉴定出番茄中有两大类 PE 同工酶,这两类对果实中 PE 的多克隆抗体和亚麻脒胍质 PE 的抗体有不同的免疫反应。第一类 PE 蛋白质有 PI 8.2、PI 8.4、PI 8.5 三种,均在果实中表达,是 PE 活性的主要形式。而第二类酶等电点在 pH 9.0 以上,在果肉和营养组织中均有表达,能与亚麻脒胍质 PE 的多克隆抗体发生免疫交叉反应,且不受 PE 反义基因表达的影响。这表明编码 PE 的基因至少有两个,且两者同源性较低,第二类 PE 可能与植物生长发育相关。

2.3 纤维素酶(Cellulase)

纤维素酶对羧甲基纤维素、木葡聚糖和具有葡聚糖结构的物质表现活性,因此有些文献称为葡聚糖酶。纤维素酶在不同果实软化中的作用不同,在番茄、梨果实中一般认为纤维素酶仅起次要的作用,而在鳄梨软化中似乎起主导作用。Buse 和 Laties^[44]发现鳄梨纤维素酶活性随果实成熟度的增加而显著增加。采用荧光标记的纤维素酶抗体和 PG 抗体检测果肉圆片中酶的变化发现,呼吸高峰后一天,PG 的表达检测不出,而纤维素酶在呼吸高峰前就有表达,乙烯处理后纤维素酶和 PG 的表达量显著增加。Ben-Arie 等^[45]在柿子采收前两周喷 GA₃,果实成熟延迟,在比较胞壁成分变化后发现处理果的纤维素含量较高,这间接反映了纤维素酶在柿子软化中的作用。桃果实在跃变前只有 PI 6.5 的纤维素同工酶有活性,跃变后纤维素酶出现了 PI 6.5 和 9.5 两种同工酶^[33]。Ruzzon^[34]在桃上也得到了同样的结果,并且认为纤维素酶在软化启动时起主要作用。Hobson 经过实验发现番茄突变体无 PG 活性,果实软化较慢,纤维素酶的活性只有正常果实 PG 活性的 0.1%。杂交选择体外转译产物的免疫沉淀法检测出纤维素酶的前体在完熟期间至少增加了 50 倍^[46]。

Benett 和 Christoffersen^[46]较早利用 cDNA 确定了鳄梨的纤维素酶,并指出其初级产物约 54 kD,穿过细胞膜时切除信号肽变成 52.8 kD 的分子,经过糖基化,再与膜结合为成熟蛋白,分子量增加到 54.2 kD。从番茄中克隆出两种结构不同的纤维素酶基因 *cel 1* (cellulase 1) 和 *cel 2* (cellulase 2),两基因编码的核心蛋白在 51–53 kD 之间,与细菌中的纤维素酶有共同的保守氨基酸序列^[47]。*cel 1* 和 *cel 2* 间的氨基酸序列同源性仅有 50%。番茄的 *cel 1* 与蚕豆的纤维素酶的氨基酸序列同源性达到 68%,而 *cel 2* 则与鳄梨果实的纤维素酶的同源性达 57%。进一步序列分析表明:植物中至少有两类结构不同的纤维素酶基因家族,在番茄果实软化中均有表达,说明纤维素酶的多种酶型参与胞壁的降解。Nakaruma 等^[48]用杨树纤维素酶的 N-端序列设计探针,筛选出了编码该酶的 cDNA 进行分析,发现其开放读码框是 1 482 bp,编码 494 个氨基酸,除去可能的信号肽后有 467 个氨基酸,与鳄梨和蚕豆的纤维素酶均有 70% 的同源性。按纤维素酶的催化域划分,应是 E 家族成员。番茄用乙烯处理后,表达了 *cel 1–cel 6* 共 6 种纤维素酶基因,其中前 4 种可在果实中表达。最近,Brummell 等^[49]将 *cel 2* 基因的反义序列与烟草花叶病毒 CaMV 35S 启动子结合,转入番茄中抑制 *cel 2* 的表达。果皮和果柄中 *cel 2* 的 mRNA 含量分别较对照降低了 95% 和 80%,但果实软化与对照无显著区别,果实中乙烯的合成也没有变化,

只是采摘 4 d 后果柄的折断阻力增加了 27 % (一转基因品系) 和 46 % (另一转基因品系)。纤维素酶不同酶型在果实中的表达特点, 各类果实中纤维素酶的同源性, 以及对果实软化的作用尚不甚明了。

2.4 糖苷酶类

此外, 在不同的果实中发现了一系列与成熟软化有关的糖苷水解酶(能够水解细胞壁), 有葡萄糖苷酶、木聚糖酶、木糖苷酶、 α, β -半乳糖苷酶等。番木瓜果实成熟时(β -糖苷酶活性与 PG 活性在果肉硬度迅速下降期间有较大幅度的上升^[50]。番茄突变体 *Nr* 果肉中的糖苷酶协助纤维素酶水解果实细胞壁, 杏果实后熟期间糖苷酶活性上升, Cardarelli 等^[51]认为糖苷酶在果实软化中有一定作用。鳄梨果实后熟期间, 木糖苷酶活性上升至最高时, 纤维素酶活性和乙烯释放量达到峰值; 外源木糖苷酶处理未熟鳄梨圆片, 能促进乙烯产生, 果肉软化的超微结构观察表明与正常后熟果实无差异^[52]。“富士”和“Tsugaru”苹果软化期间糖苷酶活性不太一致, 其中 β -半乳糖苷酶活性快速增加, 但检测不出 PG 活性^[53]。Redgwell 等^[54]发现猕猴桃果实经乙烯处理后木葡聚糖内糖基转移酶(XET)活性显著增加, 与胞壁的膨胀松软相对应。因此, 他们认为 XET 酶对细胞壁的松动是其他胞壁水解酶作用的必需条件。但这需要用生物技术的手段和其它方法进一步证实。

3 与果实软化有关的胞内水解酶

人们偏重胞壁水解酶的研究, 但胞内水解酶的变化却很少引起人们的注意。Bonghi^[55]等研究桃软化后发现纤维素酶和 PG 只是在果实跃变后增加, 他们推测果实后熟早期有其它酶作用, 并且在软化开始后产生。淀粉酶在果实衰老中的作用很少报道, 但猕猴桃软化过程中淀粉酶作用明显。Lallu^[56]等发现猕猴桃软化分为两个阶段, 初始阶段硬度损失很快, 后期硬度损失缓慢, 而且初期的硬度损失似乎不是乙烯作用引起。Macrae 等^[57]发现呼吸高峰前期有淀粉水解和胞壁成分变化。王贵禧^[58]等进一步研究表明, 猕猴桃硬度迅速下降阶段淀粉大量水解、胞内淀粉粒减少, 淀粉酶活性与此阶段果实软化密切相关。茶多酚对猕猴桃的保鲜效应主要是抑制了淀粉酶的活性, 降低了淀粉的损失^[59], 而淀粉有维持细胞膨压的作用。芒果成熟初期有大量的淀粉粒, 成熟期间淀粉水解, 淀粉酶活性增加, 且 ABA 促进成熟时, 随胞壁物质的降解淀粉粒很快消失^[60]。枣成熟时也有淀粉水解现象, 梁小娥等^[61]认为淀粉水解与枣果实胞壁物质和相关的水解酶共同导致了软化。香蕉后熟时淀粉大量降解, Kojima^[62]等认为果胶和半纤维素及淀粉的降解是香蕉软化的主要原因。我们实验发现淀粉酶在油桃软化早期有重要作用^[63]。

蔗糖酶活性与果实软化衰老有一定关系。张立平^[64]报道酸性蔗糖酶在白兰瓜子叶生长后期升高, 衰老发生后显著下降。徐昌杰^[65]等测定柑橘果实成熟期间外切 PG、外切纤维素酶活性时发现蔗糖酶活性很高。柿子贮藏期间总糖含量稍有下降, 而蔗糖含量逐渐降低, 20℃比 5℃下降显著^[66]。Sanchez^[67]发现南美番荔枝胞壁降解酶 PG、纤维素酶和蔗糖酶活性高峰与呼吸高峰较为一致, 果糖和葡萄糖在后熟期间一直增加, 应该是蔗糖酶作用的结果。Wang^[68]以番茄酸性转化酶(蔗糖酶)的 cDNA 为探针, 测定番茄果实成熟过

程中酸性转化酶的变化,发现后熟时酸性转化酶的 mRNA 水平增加,从分子水平上证实蔗糖酶在果实成熟衰老中有一定的作用。我们在油桃上的实验结果也表明,在果肉硬度迅速下降期间蔗糖酶和淀粉酶活性较高,说明蔗糖酶和淀粉酶对果实软化有极其重要的作用。我们推测,果肉细胞软化期间细胞膨压的变化及细胞壁的承受能力的变化应该是果实软化的根源。Murayama^[69]等证实“Le Lectier”梨在 95%RH 条件下贮藏 3 周后迅速软化,而 75%和 55%条件下贮藏 4 周果肉硬度仍无较大变化,表明适度失水有利于一些种类果实贮藏,这或许可以认为是上述观点的间接证明。梨果实软化前,细胞膨压影响果实的抗张强度,而已经软化果肉的细胞膨压对果实的抗张强度没有影响^[70],提示膨压对果实软化有相当重要的作用。

4 结语

果实的软化问题一直是研究者密切关注的问题。随着研究的不断进展,人们对果肉软化机理的认识越来越深入,从以前的单一注意果胶降解相关酶 PG、PE 逐渐认识到细胞壁的其它降解酶和细胞内部与物质降解有关的水解酶,如蔗糖酶、淀粉酶。此外,细胞壁的溶解和解聚以及细胞膨压的变化对果肉软化的作用也引起了科学家们的注意,作为细胞壁重要结构物质的伸展蛋白在植物的抗旱、抗寒、抗病以及对其它环境因子皆有响应。目前发现一伸展蛋白基因在果实中特异表达,而且受后熟调控^[71]。Mcqueen-Mason 等报道,伸展蛋白在果实软化中具有重要作用,它促使微纤丝束和半纤维素的解离,使细胞壁松弛^[72],但其作用机理还不太清楚。所有这些都将成为新的研究热点。尽管目前果肉软化的关键因子还没有找到,但生物技术手段的运用,必将使我们对果实软化的认识更全面,更深入。

参考文献:

- [1] Weckler D E. Structural characterization of pectic polymers during ripening and storage of apple (galactans, arabinans, arabinogalactan) [D]. DAI-C, 58/04, P1990,1997.
- [2] 周培根, 罗祖友, 吴邦良. 桃成熟期间果实软化与果胶及有关酶的关系 [J]. 南京农业大学学报, 1991, 14(2): 33-37.
- [3] Fils-Lycaon M, Lovatf C J, Coggins C W, et al. Loss of firmness and changes in pectic fractions during ripening and over-ripening of sweet cherry [J]. HortSci, 1990, 25 (7):777-778.
- [4] Dawson D M, Walkins C B, Melton L D. Intermittent harming affects cell wall composition of 'Frantasia' nectarine during ripening and storage [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1995, 120 (6):1057-1062.
- [5] Ning B, Kubo Y. Softening characteristics of Chinese pear 'Yali' fruit with special relation to changes in cell wall polysaccharides and their degrading enzymes [J]. Scientific Reports of the Faculty of Agriculture Okayama University, 1997, 86:71-78.
- [6] Kramer M, Sanders R. Postharvest evaluation of transgenic tomatoes with reduced levels of polygalacturonase, processing firmness and disease resistance [J]. Post Biol Tech, 1992, 1(2):411-419.
- [7] Carrington C M S, Greve L C, Labavitch J M. Cell wall metabolism in ripening fruit. VI. Effect of the antisense polygalacturonase gene on cell wall changes accompanying ripening in transgenic tomatoes [J]. Plant Physiol, 1993, 103:429-434.

- [8] Von-Mollendorff L J, Jacob G, De-Villiers O T. Effects of temperature and fruit size on firmness, extractable juice, wooliness and browning in two nectarine cultivars [J]. *J Hortsci*, 1992, 67(5): 647-654.
- [9] 夏春森, 王兰英. “红星”苹果在贮藏中果肉发棉生理过程的研究 [J]. *园艺学报*, 1991, 8(2): 29-36.
- [10] Fischer R L, Bennett A B. Role of cell wall hydrolyses in fruit ripening [J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1991, 42: 675-683.
- [11] Fishman M L, Gross K C, Gillespie D T, et al. Macromolecular components of tomato fruit pectin [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1989, 274: 179-191.
- [12] Fishman M L, Levy B, Gillespie D T. Changes in the physiol-chemical properties of peach fruit pectin during on-tree ripening and storage [J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 1993, 118 (3): 343-349.
- [13] Blackburn H D, Jeger M J, John P, et al. Inhibition of degreening in the peel of bananas ripened at tropical temperatures. II. Changes in plastid ultrastructure and chlorophyll protein complexes accompanying ripening in bananas and plantains [J]. *Ann Appl Biol*, 1990, 117: 147-161.
- [14] 饶景萍, 任小林. 果实成熟过程中组织超微结构变化 [J]. *西北植物学报*, 1997, 17(1): 128-134.
- [15] Harfield R, Nevins D J. Cell wall changes in ripening avocado fruits [J]. *Plant Physiol*, 1985, 77 (4): 62-68.
- [16] 田建文. 柿子常温贮藏研究 [D]. 杨凌: 西北农业大学, 1991.
- [17] 曹宗巽, 周阮宝, 赵毓桔. 其它生长调节物质 [A]. 余叔文, 汤章城. *植物分子与分子生物学* [M]. 北京: 科学出版社, 1998. 512-534.
- [18] 吴明江, 张忠恒, 于萍. 苹果软化过程中质壁互作的生理和结构研究 [J]. *园艺学报*, 1995, 22(2): 181-182.
- [19] Xue Y B, Kubo Yznaba A. Effects of humidity on ripening and texture in banana fruit [J]. *J Japan Soc Hort Sci*, 1995, 64(3): 657-664.
- [20] Jen J J, Robison M L. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers [J]. *J Food Sci*, 1984, 49(4): 1085-1087.
- [21] Huber D J. Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicellulose [J]. *J Food Sci*, 1984, 49(5): 131-135.
- [22] 陆春贵, 徐鹤林, 周立新. PG、ACC、乙烯对番茄果实成熟的影响 [J]. *园艺学报*, 1995, 22(1): 57-60.
- [23] 周宏伟, 吴耕西. 长把梨贮藏过程中 PG 酶与果胶甲酯酶作用 [J]. *山东农业大学学报*, 1992, 23 (1): 67-70.
- [24] Baldwin E A. Exopolgalacturonase elicits ethylene production [J]. *HortSci*, 1990, 25 (7): 779-780.
- [25] 卢春彬, 刘存德, 梁厚果. PG 在番茄成熟中的作用及二价金属离子与乙烯对 PG 活性影响 [J]. *植物学报*, 1990, 32(5): 337-342.
- [26] Bolin H R, Huxsoll C C. Scanning electron microscope /image analyzer determination of dimensional postharvest changes in fruit cells [J]. *J Food Sci*, 1987, 52 (6): 1649-1650.
- [27] Crooks P R, Grieson D. Ultrastructure of tomato fruit ripening and the role of polygalacturonase isoenzymes in cell wall degradation [J]. *Plant Physiol*, 1983, 72: 1088-1093.
- [28] Smith C J S, Watson C F, Morris P S. Inheritance and effect on ripening of antisense polygalacturonase genes in transgenic tomato [J]. *Plant Mol Biol*, 1990, 14: 369-379.
- [29] Brummell D A, Labavitch J M. Effect of antisense suppression of endopolygalacturonase activity on polyuronide molecular weight in tomato fruit and in fruit homogenates [J]. *Plant Physiol*, 1997, 115(2): 717-725.
- [30] Giovannonni J J, Dellapenna D, Bennett A B, et al. Expression of a chimeric polygalacturonase gene in transgenic *rin* tomato fruit: Results in polyuronide degradation but not fruit softening [J]. *Plant Cell*, 1989, 1: 53-63.
- [31] Pressey R. Polygalacturonases in higher plants [A]. In: Fishman M L, Jen J J. *Chemistry and Function of Pectins* [M]. *Amer Chem Soc Ser*, Vol. 910, 1986. 157-174.
- [32] Bennett A B, Dellapenna D. Polygalacturonase: Its importance and regulation in ripening [A]. In: Nevius N, Jones R. *Tomato Biotechnology* [M]. New York: Elsevier, 1987. 299-308.
- [33] Tonutti P, Bonghi C, Vidrih R, et al. Biochemical and molecular aspects of peach fruit ripening [A]. In: Hribar J,

- Johnson D S, Bohling H. The Post-harvest Treatment of Fruit and Vegetables: Quality Criteria. Proceedings of a Workshop [C]. Italy: Bled, Slovenia, 1994. 101-104.
- [34] Ruzzon S, Ruperti B, Bonghi C, et al. Activity and biochemical characterization of endo-beta-1,4 glucanase and polygalacturonases during development and ripening of peach fruits [A]. In: Atti del Workshop Nazionale. Postraccolta Degli Ortoflorofrutticoli, Vol. 5 [C]. Italy: Ascea Marina, 1998. 32-35.
- [35] Brady C J, Mcyllasson W B, Deasson J A. Interactions between the amount and molecular forms of polygalacturonase, calcium and firmness in tomato fruit [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1985, 110 (2):254-257.
- [36] Ali I M, Brady C J. Purification and characterization of polygalacturonases of tomato fruits [J]. Aust J Plant Physiol, 1982, 9:155-169.
- [37] 黄卫东, 原永兵. 温带果树开花结实生理 [M]. 北京: 农业出版社, 1996. 240-289.
- [38] Barrett D M, Gonzalez C. Activity of softening enzymes during cherry maturation [J]. J Food Sci, 1994, 59 (3):574-577.
- [39] Graff J, Tiznadi M E, Handa A K. Characterization and functional expression of a ubiquitously expressed tomato pectin methylesterase [J]. Plant Physiol, 1997, 114 (4):1547-1556.
- [40] Thakur B R, Singh R K, Handa A K. Effect of antisense pectin methylesterase gene on the chemistry of pectin in tomato (*Lycopersion esculentum*) juice [J]. J Agric Food Chem, 1996, 44 (2):628-630.
- [41] Hilary G, Colin B. Purification of three pectin esterases from ripe peach fruit [J]. Phytochem, 1994, 31 (4):949-955.
- [42] Cameron R G, Grohmann K. Purification and characterization of a thermally tolerant pectin methylesterase from a commercial valencia fresh frozen orange juice [J]. J Agric Food Chem, 1996, 44(2):458-462.
- [43] Cameron R G, Grohmann K. Partial purification and thermal characterization of pectinmethylesterase from red grape fruit finisher pulp [J]. J Food Sci, 1995, 60 (4):821-825.
- [44] Buse L E, Laties G G. Ethylene-mediated posttranscriptional regulation in ripening avocado (*Persea americana*) mesocarp discs [J]. Plant Physiol, 1993, 102:417-423.
- [45] Ben-Arie R, Sacks Y, Sonago L, et al. Cell wall metabolism in gibberellin treated persimmon fruits [J]. Plant Growth Regulation, 1996, 19 (1):25-33.
- [46] Bennett A B, Christoffersen R E. Synthesis and processing of cellulase from ripening avocado fruit [J]. Plant Physiol, 1986, 81:830-835.
- [47] Lashbrook C C, Gonzalez B C, Bennett A B. Two divergent endo-beta-1,4-glucanase genes exhibit overlapping expression in ripening fruit and abscising flowers [J]. Plant Cell, 1994, 6(10):1485-1493.
- [48] Nakamura S, Mori H, Subai F, et al. Cloning and sequencing of a cDNA for poplar endo-beta-1,4-glucanase [J]. Plant Cell Physiol, 1995, 36(7):1229-1235.
- [49] Brummell D A, Hall B D, Bennett A B. Antisense suppression of tomato endo-1,4-beta-glucanase *Cel2* mRNA accumulation increases the force required to break fruit abscission zones but does not affect fruit softening [J]. Plant Mol Biol, 1999, 40(4):615-622.
- [50] Lazan H, Slamati M K, Ali Z M. beta-galacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening [J]. Physiol Plant, 1995, 95:106-112.
- [51] Cardarelli M T, Botondi R, Mencarelli F. Role of glycosidases in the softening of apricots during postharvest ripening [A]. In: Atti del Workshop Nazionale. Postraccolta Degli Ortoflorofrutticoli Vol. 5 [C]. Italy: Ascea Marina, 1998, 27-31.
- [52] Ronen R, Iauberman G, Akerman M, et al. Xylanase and xylosidase activities in avocado fruit [J]. Plant Physiol, 1991, 95:961-964.
- [53] Kang I K, Kim H Y, Kweon H J, et al. Changes in ethylene production, respiration rates and cell wall hydrolase

- activities during storage of apples [J]. *J Kor Soc Hort Sci*, 1999, 40(4):451-454.
- [54] Redgwell T B, Fry S C. Xyloglucan endotransglycosylase activity increases during kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) ripening [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103:1399-1406.
- [55] Bonghi C. Peach ripening: the involvement of cellulase and polygalacturonase [A]. *Proceedings of the Third Congress of European Society for Agronomy* [C]. Italy: Lucca, 1994. 580-581.
- [56] Lallu N, Scale A N, Macrae E A. An investigation of ripening and handling storages for early season kiwifruit [J]. *J Sci Food Agric*, 1989, 47(4):387-400.
- [57] Macrae E, Redwell R. Softening in kiwifruit [J]. *Postharvest News and Information*, 1992, 3 (3):49-52.
- [58] 王贵禧, 韩雅珊, 于梁. 猕猴桃软化过程中阶段性专一酶活性变化的研究 [J]. *植物学报*, 1995, 37(3):198-203.
- [59] 王绍美, 赵讲芬. 茶多酚对采后猕猴桃果实生理生化的影响 [J]. *果树科学*, 2000, 17(4):273-276.
- [60] Hador S. 赤霉素对芒果成熟及品质的影响 [J]. *热带作物译丛*, 1990, (2):33-35.
- [61] 梁小娥, 王三宝, 赵迎丽, 等. 枣采后果肉软化的生化和细胞超微结构变化 [J]. *园艺学报*, 1998, 25(4):333-337.
- [62] Kojima K, Sakurai N, Kuraishi S. Fruit softening in banana: correlation among stress-relaxation parameters, cell wall components and starch during ripening [J]. *Physiol Plant*, 1994, 90(4):772-778.
- [63] 彭丽桃. 油桃后熟软化机理及 GA₃ 处理效应研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2000.
- [64] 张立平, 文江祁, 杨成德, 等. 白兰瓜子叶衰老过程中蔗糖同工酶的分离及其活性变化 [J]. *植物生理学报*, 1993, 19(1):17-20.
- [65] 徐昌杰, 陈昆松, 张上隆. 蔗糖酶对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 [J]. *植物生理学通讯*, 1997, 33(1):43-46.
- [66] 高经成, 袁明耀, 徐容江. 柿子后熟过程中生理代谢和品质变化及乙烯催熟效果 [J]. *食品科学*, 1993, (4):14-16.
- [67] Sanchez J A, Zamorano J P, Alique R. Polygalacturonase, cellulase and invertase activities during cherimoya fruit ripening [J]. *J Hort Biol*, 1998, 73(1):87-92.
- [68] Wang F, Smith A G, Brenner M L. Isolation and sequencing of tomato fruit sucrose synthase cDNA [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103:1463-1464.
- [69] Murayama H, Satoh D, Ohta Y, et al. Effect of relative humidity on ripening of 'Le Lectier' pear fruit [A]. In: *Postharvest Physiology of Fruits Vol. 398* [M]. Netherlands: ISHS, 1995. 187-193.
- [70] Belic N D, Hallett I C, Harker R, et al. Influence of ripening and turgor on the tensile properties of pears: a microscopic study of cellular and tissue changes [J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 2000, 125(3):350-356.
- [71] Rose J K C, Howard H L, Bennett A B. Expression of a divergent expansion gene is fruit-specific and ripening regulated [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(11):5955-5960.
- [72] Mcqueen-Mason S, Cosgrove D J. Disruption of hydrogen bonding between plant cell wall polymers by proteins that induce wall extension [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91:6574-6578.