

细胞壁代谢与琯溪蜜柚果实成熟过程汁胞粒化的关系

余文琴^{a*}, 赵晓玲^a, 潘东明^a, 林河通^b

(福建农林大学, a. 园艺学院; b. 食品科学学院, 福州 350002)

摘要: 以易发生汁胞粒化的老龄树和不易发生汁胞粒化的适龄树的琯溪蜜柚(*Citrus grandis* (L.) Osbeck ‘Guanxi-miyou’)果实为材料,研究了果实成熟过程中汁胞粒化发生与细胞壁代谢的关系。结果表明:老龄树果实的汁胞粒化指数随着果实成熟而上升。在汁胞粒化发生过程中,汁胞维持较低的细胞壁降解酶[果胶甲酯酶(PE)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)、纤维素酶(Cx)]活性,保持较高的细胞壁物质(原果胶、纤维素、半纤维素)含量;尤其在汁胞粒化的启动阶段和加快阶段,纤维素、半纤维素含量极显著增加。相反,适龄树果实的汁胞粒化指数在果实成熟过程中变化不大,汁胞中细胞壁降解酶活性较高,促进原果胶、纤维素、半纤维素等细胞壁物质的降解,保持较低的细胞壁物质含量,使汁胞发育正常、柔软多汁。这说明 PE、PG、Cx 活性和原果胶、纤维素、半纤维素含量与琯溪蜜柚汁胞粒化密切相关。

关键词: 琯溪蜜柚; 成熟; 汁胞粒化; 细胞壁代谢

中图分类号: Q945.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2008)06-0545-06

Relationship between Cell Wall Metabolism and Fruit Juicy Sac Granulation during Fruit Mature Stage of Pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck ‘Guanxi-miyou’]

SHE Wen-qin^{a*}, ZHAO Xiao-ling^a, PAN Dong-ming^a, LIN He-tong^b

(a. College of Horticulture; b. College of Food Science; Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Fruits of pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck ‘Guanxi-miyou’] from old-age trees occurred easily juicy sac granulation and proper-age trees not occurred juicy sac granulation were used to study the relationship between juicy sac granulation and cell wall metabolism during the fruit mature stage. The index of juicy sac granulation of fruits from the old-age trees increased with fruit maturing. Pectinesterase (PE), polygalacturonase (PG) and cellulase in juicy sacs kept low activities, and the contents of protopectin, cellulose and semicellulose were high during the development of juicy sac granulation. At the early and the rapid developmental stages of juicy sac granulation, the contents of cellulose and semicellulose were enhanced significantly. In contrast, the index of juicy sac granulation of fruits from the proper-age trees had little change with the fruit maturing. The activities of PE, PG and cellulase in juicy sacs were high and the contents of protopectin, cellulose and semicellulose were low. It suggested that the activities of PE, PG and cellulase, and the contents of protopectin, cellulose and semicellulose were closely related to juicy sac granulation of pummelo fruits.

Key words: Pummelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck ‘Guanxi-miyou’); Maturing; Juicy sac granulation; Cell wall metabolism

收稿日期: 2008-01-10 接受日期: 2008-04-21

基金项目: 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20040389008); 福建省教育厅高等学校科技项目(JA07065); 福建农林大学青年教师科研基金项目(2005)资助

* 通讯作者 Corresponding author

琯溪蜜柚 (*Citrus grandis* (L.) Osbeck ‘Guanxi-miyou’) 为亚热带常绿乔木果树, 是福建省最主要的栽培柚类品种。琯溪蜜柚因皮薄、肉嫩、汁多、酸甜适口、果大、味美、耐贮运等优良品质而享誉海内外。但琯溪蜜柚果实存在“汁胞粒化”的生理病害, 表现为汁胞中柱和轴端汁胞异常膨大, 汁胞变硬、细胞壁加厚、木质纤维化、榨汁率下降, 风味变淡。琯溪蜜柚果实汁胞粒化通常从囊瓣近蒂端汁胞发生, 后渐向果心发展, 其中以果心处长形汁胞粒化最为严重^[1-2]。琯溪蜜柚果实汁胞粒化发生在采前, 采后贮藏过程中果实汁胞粒化进一步加重。汁胞粒化严重影响琯溪蜜柚的食用品质和商品价值。目前, 对柑橘类果实汁胞粒化的研究主要涉及采后因素, 琯溪蜜柚果实汁胞粒化与矿质营养^[3]、植物生长调节剂^[4]、采后保护酶活性变化^[5]、树势^[6]等有关。目前, 对琯溪蜜柚果实汁胞粒化发生的生理机制所知甚少。细胞壁代谢在竹 (*Phyllostachys vivax*) 笋等采后木质纤维化发生中起着关键作用^[7-8]。有关细胞壁代谢在琯溪蜜柚果实成熟过程汁胞粒化发生中的作用未见报道。本文以琯溪蜜柚易发生汁胞粒化的老龄树和不易发生汁胞粒化的适龄树果实为材料, 探讨果实成熟过程中细胞壁代谢与汁胞粒化的关系, 为控制琯溪蜜柚果实汁胞粒化提供理论依据和实践指导。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料采自福建省漳州市平和县新桥镇小溪村大坑果园, 以 30 a 树龄的易发生汁胞粒化老龄树和不易发生汁胞粒化的 15 a 适龄树的琯溪蜜柚 (*Citrus grandis* (L.) Osbeck ‘Guanxi-miyou’) 果实为材料, 在果实成熟期的 8 月 8 日到 10 月 8 日间, 每隔 10 d 采果, 采收当天运至实验室 (福州)。选择大小适中、均匀一致, 无病虫、无损伤的果实各 45 个进行实验, 观察果实汁胞粒化情况, 并从中随机取粒化和未粒化汁胞测定其生理生化指标。

1.2 果实汁胞粒化评价

每次分别取 15 个果实, 每个果实 10 瓣左右, 共 150 瓣左右。按照粒化范围把汁胞粒化分为 4 级。0 级: 汁胞柔软有弹性, 没有粒化的瓣数; 1 级: 汁胞粒化范围 < 瓣长 1/3 的瓣数; 2 级: $1/3 \leq$ 汁胞粒

化范围 < 1/2; 3 级: $1/2 \leq$ 汁胞粒化范围 < 瓣长 2/3 瓣数; 4 级: 汁胞粒化范围 \geq 瓣长 2/3 瓣数。汁胞粒化指数 = Σ (汁胞粒化级数 \times 该级果瓣数) / 总果瓣数。各处理重复 3 次。

1.3 汁胞细胞壁组分含量测定

原果胶和可溶性果胶含量测定按照韩雅珊^[9]和林河通等^[10]的方法; 纤维素含量测定按照宁正祥^[11]和林河通等^[10]的方法; 半纤维素含量测定按照茅林春和张上隆^[12]的方法。

1.4 细胞壁降解酶活性测定

参照 Andrews 等^[13]的方法, 从果实中随机取汁胞 2 g, 加入 6 ml 40 mmol/L (pH 5.2) 的醋酸钠缓冲液 [pH 4.8, 内含 NaCl 100 mmol/L, 2% (V/V) 巯基乙醇, 5% (W/V) PVP(K-30)], 冰浴研磨, 25 000 $\times g$ 冷冻 (2 $^{\circ}$ C) 离心 20 min, 取上清液用于细胞壁降解酶活性测定。其中果胶甲酯酶 (PE) 活性的测定按照 Lin 等^[14]的方法, 以 1 h 消耗 1 μ mol NaOH 的酶量为 1 个酶活性单位 (U), 以 $U g^{-1} FW h^{-1}$ 表示; 多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性的测定按照 Gross^[15]的方法, 以 1 h 生成 1 μ mol 半乳糖醛酸的酶量为 1 个酶活性单位 (U), 以 $U g^{-1} FW h^{-1}$ 表示; 纤维素酶活性的测定按照 Andrew 等^[13]的方法, 以 1 h 生成 1 μ mol 葡萄糖的酶量为 1 个酶活性单位 (U), 以 $U g^{-1} FW h^{-1}$ 表示。

以上各指标测定均重复 3 次, 取其平均值并进行统计分析。

2 结果和分析

2.1 果实成熟过程中汁胞粒化指数的变化

图 1 可见, 琯溪蜜柚果实汁胞在成熟过程粒化发生中, 易发生汁胞粒化的老龄树果实的汁胞粒化指数随着果实成熟而上升。8 月 8 日几乎未见粒化的发生, 在 8 月 8 日到 9 月 8 日期间粒化程度逐渐加重, 粒化指数逐渐加大, 9 月 8 日后粒化程度明显加重, 粒化指数变化很大。相关分析表明, 果实粒化指数与果实成熟过程呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。因此根据汁胞粒化程度, 将琯溪蜜柚汁胞粒化进程划分为粒化起始前期阶段 (8 月 8 日 ~ 9 月 8 日)、粒化起阶段 (9 月 8 日 ~ 9 月 28 日)、粒化加快阶段 (9 月 28 日以后)。而不易发生汁胞粒化的适龄树汁胞粒化指数在果实成熟过程中变化不大。

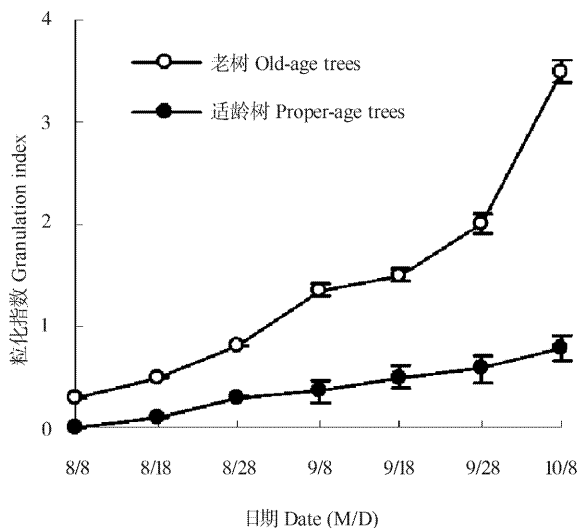


图1 琯溪蜜柚果实汁胞在成熟过程中粒化指数的变化

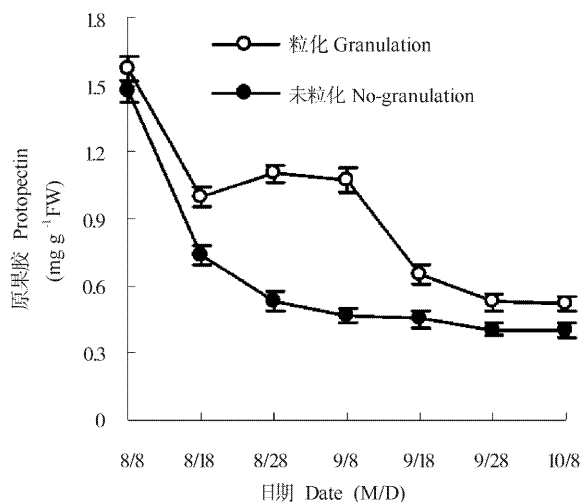
Fig. 1 Changes in granulation index of 'Guanxi-miyou' fruits during mature stage

2.2 细胞壁组分含量的变化

2.2.1 原果胶、水溶性果胶含量

实验结果显示,汁胞细胞壁组分含量以纤维素为主,其次是半纤维素、原果胶。果实成熟阶段汁胞原果胶、水溶性果胶含量变化见图2。果实在成熟过程中原果胶含量不断下降,果实汁胞变软,内含物增加。在汁胞粒化发生过程中,老齡树汁胞保持较高的原果胶含量,这说明粒化汁胞原果胶转化为水溶性果胶的速度相对较慢。

老齡树汁胞的水溶性果胶含量在9月8日出现一高峰后缓慢下降,9月28日后稍上升;而适龄树未粒化汁胞随果实的成熟,原果胶含量逐渐减少,



水溶性果胶逐渐上升。粒化起动阶段和加快阶段未粒化汁胞水溶性果胶含量高于粒化汁胞。方差分析表明,粒化水平对水溶性果胶含量的影响达极显著水平($P < 0.01$)。在果实成熟过程中原果胶被水解成可溶性果胶,果实变软;但粒化汁胞可溶性果胶含量在成熟后期降低可能是一部分可溶性果胶与钙、硼、镁等离子结合,或被共价键固定到细胞壁上,形成凝胶。琯溪蜜柚果实粒化减缓了原果胶含量的降低、水溶性果胶增长的过程。

2.2.2 半纤维素和纤维素含量

琯溪蜜柚果实在粒化发生时汁胞半纤维素和纤维素含量变化见图3。老齡树粒化汁胞的半纤维素含量随果实的成熟呈先下降后上升的趋势,未粒化汁胞的半纤维素含量下降;但半纤维素含量的变化幅度不大。另外,老齡树粒化汁胞的纤维素含量不断增加,在8月18日到9月18日纤维素含量增加幅度不大,9月18日后急剧增加;未粒化汁胞的纤维素含量先下降后上升,到9月8日后又不断下降。可见,老齡树在汁胞粒化发生过程中,汁胞的纤维素、半纤维素含量较高,尤其在汁胞粒化的起动阶段和加快阶段的纤维素、半纤维素含量极显著增加。

2.3 细胞壁降解酶活性的变化

2.3.1 果胶甲酯酶(PE)

从图4A可见琯溪蜜柚果实在粒化发生时汁胞PE活性的变化。PE活性在9月18日前呈下降趋势,在9月28日出现高峰后快速下降。老齡树汁胞的PE活性均较低。

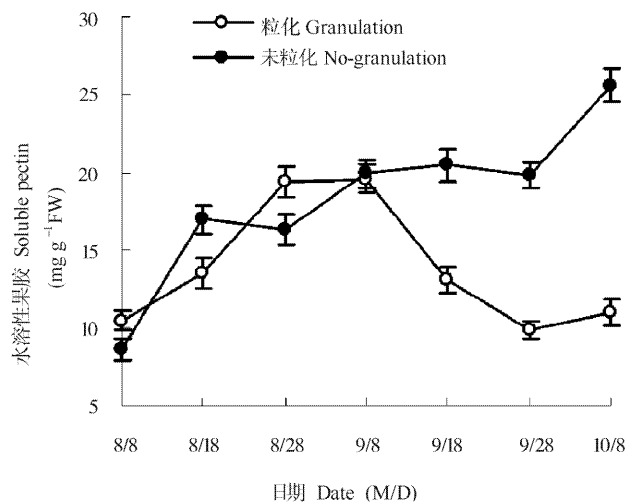


图2 汁胞原果胶、水溶性果胶含量的变化

Fig. 2 Changes in contents of proto-pectin and soluble pectin in 'Guanxi-miyou' fruits

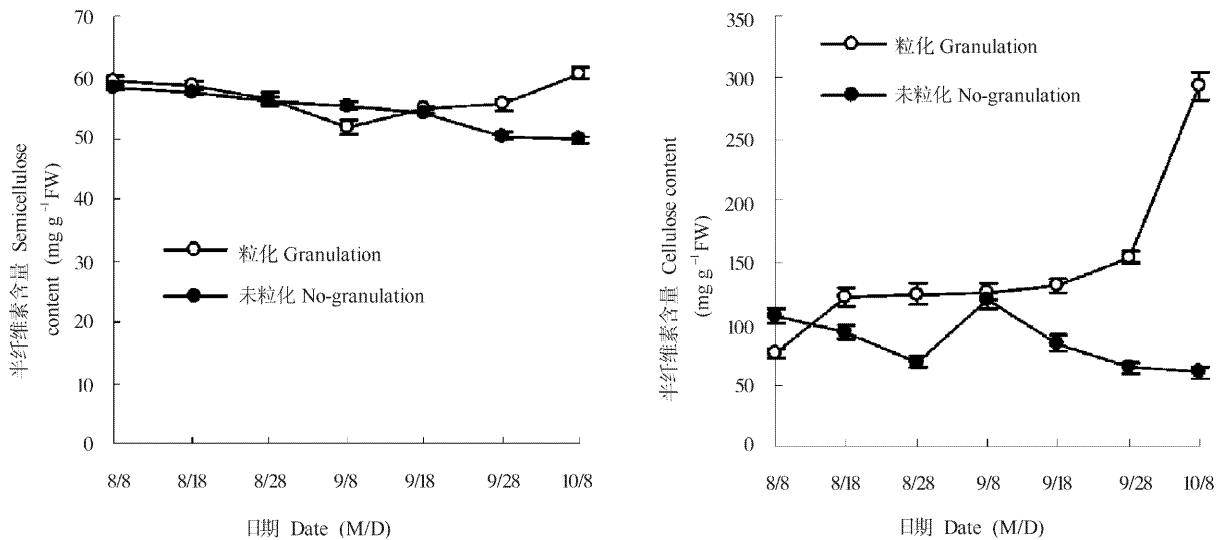


图 3 汁胞半纤维素和纤维素含量的变化

Fig. 3 Changes in contents of semicellulose and cellulose in 'Guanxi-miyou' fruits

2.3.2 多聚半乳糖醛酸酶(PG)

琯溪蜜柚果实在粒化发生时,汁胞 PG 在粒化起始前期阶段活性较低(图 4B);未粒化汁胞 9 月 8 日后,粒化汁胞 9 月 18 日后的 PG 活性才明显增强,在 9 月 28 日,PG 活性达到高峰后下降。老龄树汁胞的 PG 活性均较低。

2.3.3 纤维素酶(Cx)

图 4C 可见,琯溪蜜柚果实在成熟过程中,Cx 活性随果实成熟而上升,8 月 8 日基本没有活性,10 d 后活性增强,接着迅速上升,到 9 月 8 日出现活性高峰后下降。老龄树汁胞的 Cx 活性比适龄树低。说明 Cx 与粒化关系密切。

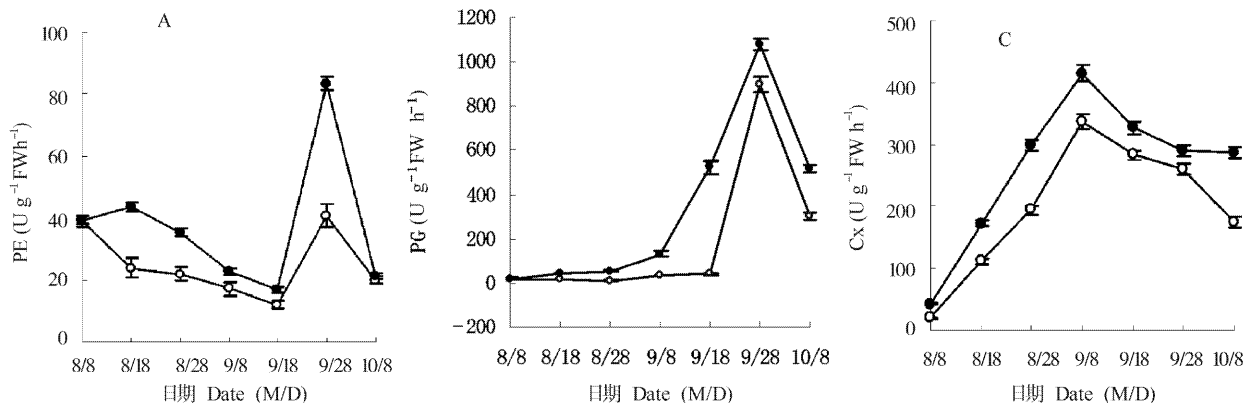


图 4 汁胞 PE(A)、PG(B)和 Cx(C)活性的变化

Fig. 4 Changes in activities of PE (A), PG (B) and Cx (C) in 'Guanxi-miyou' fruit

○: 粒化 Granulation; ●: 未粒化 No-granulation

3 讨论

高等植物细胞壁是由纤维素、半纤维素、果胶物质等大分子组成。纤维素是细胞壁的骨架;细胞壁结构的改变不仅与果胶降解有关,而且与纤维素的结构变化有关^[6]。植物细胞壁中的原果胶首

先在 PME 的作用下去甲酯化,然后 PG 进一步切断果胶的多聚半乳糖链,使原果胶转变为水溶性果胶^[7]。Hwang 等^[8]对马叙葡萄柚 (*Citrus paradisi* 'Marsh') 的研究表明,粒化汁胞的结构多糖类(果胶、纤维素、半纤维素等)含量比正常汁胞高出 2 倍多。Singh 等^[9]报道,粒化与果胶甲酯酶的活性呈

负相关, 粒化程度高的 Kaula 宽皮柑橘 (*Citrus reticulata* 'Kaula') 的果胶甲酯酶活性最低。Chakrawar 等^[20]也报道粒化果实的果胶甲酯酶活性比正常的低, 并认为果胶甲酯酶与粒状化有关。

本文对琯溪蜜柚果实粒化过程中细胞壁组分含量和 PE、PG、Cx 活性变化的研究表明, 在粒化起始前期阶段(8月8日~9月8日), 易发生汁胞粒化的老龄树果实的汁胞粒化指数上升(图1), 汁胞半纤维素含量变化不大(图3); 而粒化汁胞的纤维素和可溶性果胶含量上升, 而原果胶含量下降; Cx 酶活性在明显增强, PE 酶活性降低, PG 活性很低。由此可见, 汁胞粒化的纤维素含量上升在琯溪蜜柚粒化起始前期阶段起重要作用。粒化起动阶段(9月8日~9月28日), 琯溪蜜柚粒化汁胞的原果胶和可溶性果胶含量明显下降(图2)、粒化汁胞纤维素和半纤维素含量上升(图3); 而纤维素酶活性在9月8日达高峰后下降, PG 酶活性明显增强。因此认为, 粒化汁胞的纤维素含量、PG 酶活性上升, Cx 酶活性的下降在粒化起动阶段起重要作用。在粒化加快阶段(9月28日以后), 琯溪蜜柚汁胞的原果胶含量变化不大, 可溶性果胶含量上升, 纤维素、半纤维素含量都明显上升, PE、PG、Cx 酶活性明显下降。可以认为, 纤维素、半纤维素含量的上升, 而 PE、PG、Cx 酶活性明显下降在粒化加快阶段起重要作用。

相关分析表明, 在整个成熟阶段的粒化过程中, 易发生汁胞粒化的琯溪蜜柚老龄树琯溪蜜柚果实的汁胞粒化指数与粒化汁胞纤维素含量呈极显著正相关($r=0.9447, P<0.05$)。在琯溪蜜柚成熟阶段粒化过程中的粒化起动阶段和粒化加快阶段, 即(9月8日~10月8日), 粒化汁胞的纤维素、半纤维素含量都明显上升, 粒化汁胞的原果胶和可溶性果胶含量下降, Cx 酶活性的下降; 并且汁胞粒化指数快速提高。此阶段琯溪蜜柚的汁胞粒化指数(老龄树)与纤维素含量呈极显著正相关($r=0.9914, P<0.01$); 粒化指数(老龄树)与纤维素酶活性呈显著负相关($r=-0.9599, P<0.01$); 而粒化指数(老龄树)与半纤维素含量呈极显著正相关($r=0.9623, P<0.05$)。因此认为, 在琯溪蜜柚成熟过程中(9月8日~10月8日), 粒化汁胞和纤维素、半纤维素含量以及纤维素酶活性密切相关。这说明, PE、PG、Cx 活性, 以及原果胶、纤维素、半纤维素的含量与琯溪蜜柚汁胞粒化密切相关。

参考文献

- [1] Pang D M(潘东明), Zheng G H(郑国华), Chen G X(陈桂信), et al. Analysis of the reasons caused granulation of juice sacs in guanximiyou pummelo variety [J]. J Fruit Sci(果树科学), 1999, 16(3): 202-209.(in Chinese)
- [2] Zhang Z J(张振钰), Xie Z N(谢志南), Xu W B(许文宝). Anatomical observation on differentiation and granulation processes of juice sacs in *Citrus grandis* [J]. Acta Bot Sin(植物学报), 1999, 41(1): 16-19.(in Chinese)
- [3] Xie Z N(谢志南), Zhuang Y M(庄伊美), Wang R J(王仁玕), et al. Granulation and dehiscent segments of guanxi honey pummelo fruits and their correlation to mineral nutrients [J]. J Fujian Agri Univ(福建农业大学学报), 1998, 27(1): 42-46.(in Chinese)
- [4] Pan D M(潘东明), Chen G X(陈桂信), Zheng G H(郑国华), et al. Effects of growth regulators on juice sac granulation in pummelo fruits [J]. J Fujian Agri Univ(福建农业大学学报), 1998, 27(2): 155-159.(in Chinese)
- [5] Zheng G H(郑国华), Pan D M(潘东明), Qiu Y P(丘友萍), et al. Water content of tissues, protective enzyme activity and their relationship to juicy sac granulation in pummelo at postharvest stage [J]. J Fujian Agri Univ(福建农业大学学报), 1999, 28(4): 428-433.(in Chinese)
- [6] Singh R. 65-year research on citrus granulation [J]. Ind J Hort, 2001, 58(1/2): 114.
- [7] Luo Z S(罗自生), Xi Y F(席瑀芳), Fu G Z(傅国柱), et al. Effect of heat treatment on cell wall components in relation to cell wall hydrolase of excised bamboo shoots [J]. Acta Hort Sin(园艺学报), 2002, 29(1): 43-46.(in Chinese)
- [8] Luo Z S(罗自生), Xi Y F(席瑀芳). Effects of sodium sulfite treatment on cell wall material and enzyme activity related to lignification in postharvest bamboo shoots [J]. Acta Phytophysiol Sin(植物生理学报), 2001, 27(6): 495-498.(in Chinese)
- [9] Han Y S(韩雅珊). A Laboratory Guidance of Food Chemistry [M]. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 1996: 39-58.(in Chinese)
- [10] Lin H T(林河通), Xi Y F(席瑀芳), Chen S J(陈绍军). Postharvest softening physiological mechanism of huanghua pear fruit [J]. Sci Agri Sin(中国农业科学), 2003, 36(3): 349-352.(in Chinese)
- [11] Ning Z X(宁正祥). A Handbook of Food Ingredient Analysis [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1998: 45-47.(in Chinese)
- [12] Mao L C(茅林春), Zhang S L(张上隆). Influence of intermittent low temperature stress on cell wall metabolism in peaches [J]. Acta Phytophysiol Sin(植物生理学报), 2001, 27(2): 151-155.(in Chinese)
- [13] Andrews P K, Li S L. Cell wall hydrolytic enzyme activity development of nonclimateric sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit [J]. J Hort Sci, 1995, 70(4): 561-567.
- [14] Lin T P, Liu C C, Chen S W, et al. Purification and characterization of pectinmethylesterase from *Ficus avkeotsang* Makino achenes [J]. Plant Physiol, 1989, 91: 1445-1453.
- [15] Gross K C. A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide [J]. Hort Sci,

- 1982, 17(6): 933-934.
- [16] Seymour G B, Gross K C. Cell wall disassembly and fruit softening [J]. *Postharv News Inform*, 1996, 7(3): 45-52.
- [17] Fuscger R L, Bernnett A B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, 42: 675-703.
- [18] Hwang Y S, Huber D J, Albrigo L G. Comparison of cell wall components in normal and disordered juice vesicles of grapefruit [J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 1990, 115(2): 281-287.
- [19] Singh R, Sing R J. Pectinesterase activity in relation to granulation in citrus fruits [J]. *Sci Cult*, 1985, 51: 315-316.
- [20] Chakrawar V R, Singh R J. Studies on citrus granulation II Physiological and biochemical aspects of granulation [J]. *Haryana J Hort Sci*, 1977, 6(3/4): 132-135.