

不同温度下后熟香蕉果实果皮生理与颜色变化

庞学群^{1a}, 李云^{1b,2}, 徐兰英^{1b}, 黄雪梅^{1b}, 张昭其^{1b}

(1. 华南农业大学, a. 生命科学学院; b. 园艺学院, 广州 510642; 2. 黄岛出入境检验检疫局, 山东 青岛 266555)

摘要:香蕉果实经乙烯利处理后, 比较 20℃ 和 30℃ 下后熟期间的果皮色泽、淀粉转化及几种细胞壁降解相关酶活性的变化。在 20℃ 下, 香蕉果实能正常褪绿和软化, 而 30℃ 高温则明显抑制了褪绿转黄, 加速了果皮软化。与 20℃ 后熟比较, 30℃ 促进了香蕉果皮中淀粉向可溶性糖的转化, 提高了多聚半乳糖醛酸酶、纤维素酶、果胶甲酯酶等的活性。讨论了香蕉果皮可溶性糖含量与青皮熟形成之间的可能关系。

关键词:香蕉; 后熟; 褪绿; 可溶性糖

中图分类号: Q945.65

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2008)06-0531-06

Effects of Temperature on Peel Colour and Physiological Changes of Banana Fruits during Ripening

PANG Xue-qun^{1a}, LI Yun^{1b,2}, XU Lan-ying^{1b}, HUANG Xue-mei^{1b}, ZHANG Zhao-qi^{1b}

(1a. College of Life Science; 1b. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Huangdao Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266555, China)

Abstract: Effects of temperature on peel color and physiological changes of banana fruits during ripening were investigated. Fruits were dipped in 0.1% ethephon for 1 min, and then ripened at 20℃ and 30℃, respectively. The changes in peel colour, contents of starch and soluble sugar and activities of cell wall degradation-related enzymes, such as polygalacturonase (PG), pectinmethylesterase (PME) and cellulase, were measured. The results showed that banana fruits degreened and softened normally during ripening at 20℃, while ripening at 30℃, the fruits hastened the softening and inhibited the degreening of the peel, resulting in the development of a pale greenish yellow colour. Furthermore, compared with the fruits ripened at 20℃, the starch in fruits ripened at 30℃ enhanced the conversion to soluble sugar, and the activities of PG, PME and cellulase were increased. It was suggested that there were relationship between green-ripe banana fruit at high temperature and soluble sugar in peel, but irrelevant to softening-related physiological changes.

Key words: Banana; Ripening; Degreening; Soluble sugar

香蕉(*Musa*, AAA Group)果实 在 25℃ 及以上温度下易出现青皮熟(即果肉能正常后熟软化, 但果皮仍保持绿色), 严重影响了华南地区夏秋季节香蕉的贮运和销售^[1-4]。其它水果也会出现果皮在高温时褪绿受到抑制的现象, 但抑制果皮褪绿的温度通常很高, 如油梨(*Persea americana*)需要 40℃ 高温^[5], 而番茄(*Lycopersicon esculentum*)^[6]和 Shamouti 橙(*Citrus sinensis* ‘Shamouti’)^[7]分别在 33℃ 和 35℃ 内果皮褪绿速度随温度升高而加快。可见, 香蕉“青皮熟”是一种特殊的生理失调现象, 其褪绿受到抑

制的温度远远低于正常的酶活性或蛋白质合成受到抑制的温度(通常认为在 35℃ 以上)。

目前对于香蕉青皮熟的形成机制还不清楚。1962 年, Burg^[8]推测, 香蕉青皮熟与高温下乙烯合成受到抑制有关, 但随后的研究表明香蕉在高温时释放更多的乙烯^[2], 陈维信等^[9]报道施加外源乙烯时也不能促进香蕉在高温下的褪绿。我们的研究表明, 香蕉在 20℃ 和 30℃ 下催熟, 均能出现正常的呼吸高峰和乙烯释放高峰, 但 30℃ 却抑制了果皮的叶绿素降解^[10]。虽然对香蕉果实后熟过程中的淀

粉转化、果实软化机理及相关分子基础的研究有大量报道,但主要集中在果肉组织^[11-13],而对果皮生理变化的研究非常少^[14]。本文比较了香蕉果实在 20℃ 和 30℃ 后熟过程中果皮颜色、硬度、淀粉转化和细胞壁降解相关酶活性的变化,以探讨香蕉青皮熟的形成机制。

1 材料和方法

1.1 材料

香蕉(*Musa*, AAA group)果实采自广州市番禺香蕉园,成熟度 8 成。挑选大小均匀、无病虫害和机械伤的果实,切分蕉指后,用 0.1% 的漂白粉溶液洗果、清水漂洗,然后以 0.1% 施保功 + 0.1% 乙烯利溶液浸果 1 min,晾干,用厚度为 0.03 mm 的聚乙烯薄膜袋包装,分别置于 20℃、30℃ 的恒温箱(波动范围 0.5℃)贮藏。每个处理设 3 次重复。

1.2 方法

果皮颜色测定 参照 Mcguire^[15]的方法。用日产 NR-3000 型全自动测色色差计测定果皮颜色。工作条件:C/2 光源,测定光斑直径为 10 mm,以标准白板为标准样,标准白板在 C/2 光源下 X(红色)、Y(绿色)、Z(蓝色)分别为 92.78、94.64、108.27。测定果实颜色 h 值,重复 3 次。

硬度测定 用 KM 型(日产)果实硬度计测定果皮硬度,硬度计针头为圆筒型,直径为 5 mm,长度为 10 mm,每果测 3 个点,每个处理测 9 个点。重复 3 次。硬度单位用 $N\ cm^{-2}$ 表示。

淀粉含量测定 采用碘显色法^[16]测定。取 0.05 g 烘干的香蕉果皮样品,用 5 ml 80% 的乙醇研磨,1 500 × g 离心 8 min,残渣用 5 ml 蒸馏水悬浮洗涤 1 次,再次离心后,残渣用 5 ml 80% 的 $Ca(NO_3)_2$ 悬浮,沸水浴 10 min 后,1 500 × g 离心 15 min 取上清液,将残渣用 80% $Ca(NO_3)_2$ 重复提取 2 次,合并提取液并定容至 20 ml,即为淀粉提取液。取淀粉提取液 0.3 ml,分别加入 3.7 ml 80% $Ca(NO_3)_2$ 和 200 μ l 0.01 mol/L I_2 -KI,摇匀,于 620 nm 处测定吸光值,用可溶性淀粉做标准曲线,根据标准曲线计算果皮中淀粉含量,用 $mg\ g^{-1}DW$ 表示。重复 3 次。

可溶性糖含量测定 参照徐昌杰等^[16]的方法。取 50 mg 烘干的香蕉果皮样品,用 4 ml 80% 的乙醇研磨,然后置于 80℃ 中水浴 40 min,期间不断搅拌,1 500 × g 离心 8 min,收集上清液,沉淀再用 80% 的乙醇重复提取 2 次,合并上清液,定容至

20 ml,在上清液中加入 10 mg 的活性炭,80℃ 脱色 30 min,过滤即得到可溶性提取液。取 0.1 ml 提取液浓缩除去内部的乙醇,加入 3 ml 蒽酮试剂,90℃ 保温 15 min,测定 620 nm 处吸光值。用 0.1 ml 80% 乙醇取代样品作为对照。以葡萄糖(Glu)为标样做标准曲线,用 $mg\ Glu\ g^{-1}DW$ 表示。重复 3 次。

多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性测定 参照李春燕等^[17]的方法,取香蕉果皮 1 g,加入 4 ml 冷的 0.04 mol/L pH 7.0 的醋酸缓冲液(内含 6.8% NaCl 和 1.8 mmol/L EDTA),冰浴研磨,匀浆在低温(4℃)下提取 1 h,然后 4℃ 下 9 000 × g 离心 15 min,将上清液于 0.04 mol/L pH 4.6 的醋酸钠缓冲液(4℃)中透析 24 h,得到的酶液用于酶活性的测定。反应系统包括:0.2 ml 0.04 mol/L pH 4.6 的醋酸钠缓冲液,0.3 ml 1% 的多聚半乳糖醛酸(PGA,以 0.04 mol/L pH 4.6 的醋酸钠缓冲液配制),0.1 ml 的酶液,0.2 ml 的 H_2O 。反应混合物在 37℃ 下保温 60 min,然后立即加入 1 ml 3,5-二硝基水杨酸(DNS)终止反应,放入沸水中煮沸 5 min 后,立即放入冷水中使之冷却。对照不保温直接加入 DNS 终止反应。用 3,5-二硝基水杨酸法测定生成的还原糖数量,以 D-半乳糖醛酸(Gal)为标样,以 $\mu g\ Gal\ g^{-1}FW\ min^{-1}$ 表示。重复 3 次。

果胶甲酯酶(PME)活性测定 参照李春燕等^[17]的方法,取香蕉果皮 1 g,加入 4 ml 冷的 8.8% NaCl,冰浴研磨,15 000 × g 4℃ 离心 10 min,收集上清液。测定前将果胶、指示剂、水和酶液 pH 调节至 7.5,反应体系包括 2.0 ml 0.5% 的果胶溶液,0.15 ml 0.01% 溴麝香酚兰,0.75 ml H_2O ,0.1 ml 的酶液,以水为对照,测定 620 nm 处的 OD 值的变化,以 OD_{620} 每分钟减少 0.01 为一个酶活力单位(U),以 $U\ g^{-1}FW$ 表示。重复 3 次。

纤维素酶活性测定 参照李春燕等^[17]的方法,酶液的提取同 PG 酶。取 1 ml 1% 羧甲基纤维素钠(CMC,以 0.05 mol/L pH 4.8 的柠檬酸盐缓冲液配制)加 1 ml 的酶液,于 40℃ 下保温 60 min,然后加入 2 ml DNS 终止反应,放入沸水浴中煮沸 5 min,立即用水冷却,然后用 3,5-二硝基水杨酸法测定生成的还原糖数量,以无水葡萄糖(Glu)为标样,以 $\mu g\ Glu\ g^{-1}FW\ min^{-1}$ 表示。重复 3 次。

2 结果和分析

2.1 后熟时果皮颜色和硬度的变化

香蕉果实在后熟过程中硬度逐渐降低,30℃ 显

著促进了果实硬度的下降,特别是催熟的前3 d果实硬度下降迅速(图1A)。用h值表示色泽,能直观地反映果皮颜色的变化,其值下降到90时,果皮即完全变黄^[5]。由图1B可知,经乙烯利催熟的香蕉果实在20℃下贮藏6 d时h值下降至92.28,果皮已基本转黄,而30℃下催熟的香蕉果实在6 d时h值为107.80,果皮仍保持淡黄绿色。可见,虽然高温(30℃)促进了果实硬度的下降,却显著抑制了香蕉果皮的褪绿转黄。

2.2 后熟温度对淀粉和可溶性糖含量的影响

由图2A可知,香蕉果实在后熟过程中果皮淀粉含量逐渐降低,20℃后熟的香蕉果皮中淀粉的降解比较缓慢,4 d后才急剧降解;30℃后熟时果皮淀粉降解非常迅速,2 d后淀粉含量下降了57%,4 d后几乎不能检测到淀粉。香蕉果皮可溶性糖含量变化与淀粉含量变化相反,30℃后熟时果皮可溶性糖含量迅速上升,不但比20℃的上升速度快,而且

含量一直高于20℃的(图2B)。可见高温促进了香蕉果皮淀粉的降解和可溶性糖含量的增加。

2.3 温度对香蕉果皮细胞壁降解相关酶活性的影响

由图3A可知,随着后熟时间的延续,香蕉果皮PG活性持续上升。20℃后熟时,果皮PG活性上升缓慢,而在30℃下后熟的香蕉果实果皮PG活性大幅度提高,并且在整个后熟过程中PG活性比20℃下的高。

后熟温度对PME活性的影响与PG的相似,即高温提高了PME活性(图3B)。

香蕉果实在后熟过程中果皮纤维素酶活性也表现增加的趋势,20℃下果皮纤维素酶活性上升较慢,而30℃后熟的在1 d后即大幅度上升,4 d时达到活性高峰后开始下降(图3C)。可见高温提高了香蕉果皮细胞壁降解相关酶的活性,导致青皮熟香蕉果皮迅速软化。

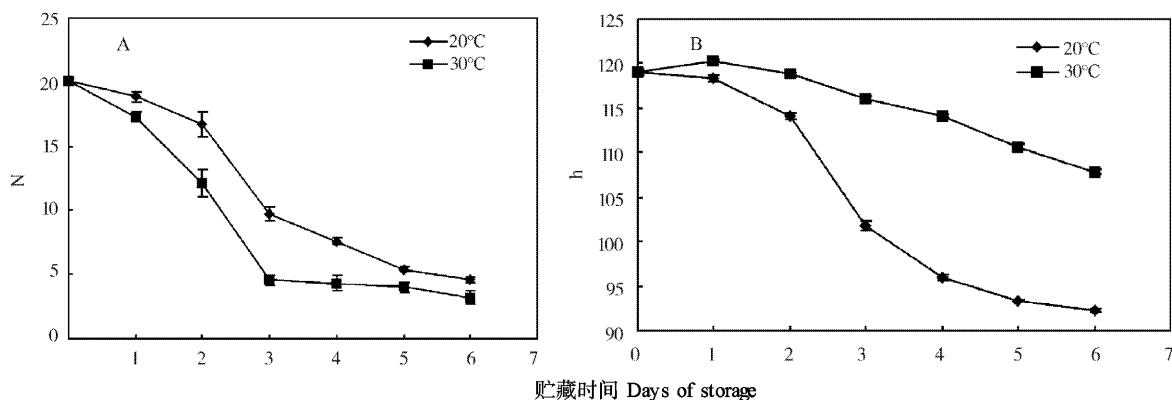


图1 香蕉在20℃和30℃后熟时果实硬度(N)和果皮色度(h)的变化

Fig. 1 Changes of fruit hardness (N) and peel color (h) of banana fruit during ripening at 20℃ and 30℃

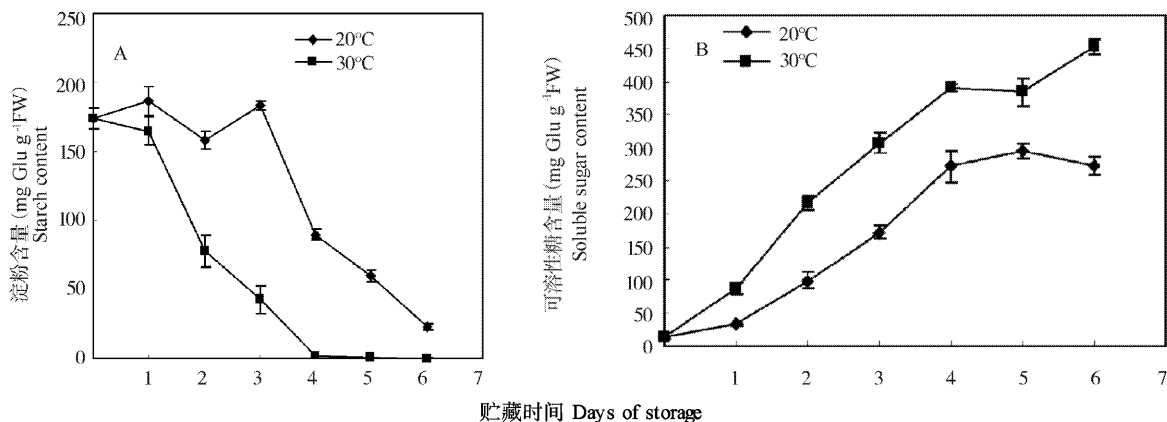


图2 香蕉在20℃和30℃后熟时果皮淀粉和可溶性糖含量的变化

Fig. 2 Changes in starch and sugar contents in banana peel during ripening at 20℃ and 30℃

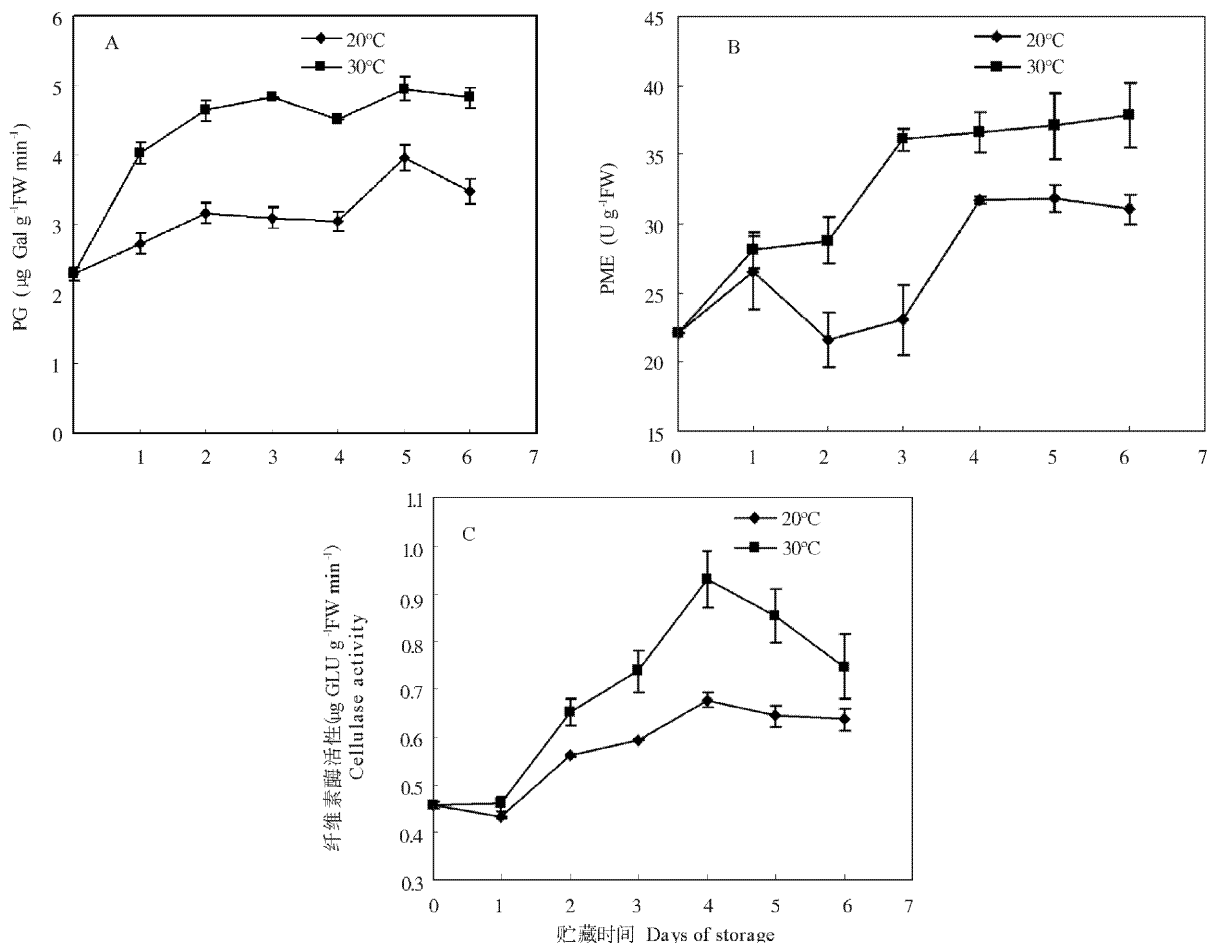


图3 香蕉在20°C和30°C后熟时果皮纤维素酶、PG和PME活性的变化

Fig 3 Changes in activities of PG, PME and cellulase in banana peel during ripening at 20°C and 30°C

3 结论和讨论

果皮褪绿转黄和果肉软化是香蕉果实后熟过程中发生的最显著的变化。关于香蕉果实后熟过程中的淀粉-糖转化、果实软化机理及相关分子基础的研究已有大量报道,但主要集中在果肉组织^[11-13],针对果皮生理变化的研究非常少^[14]。我们的研究表明,与20°C相比,30°C后熟温度促进了香蕉果皮淀粉向可溶性糖的转化,提高了果皮细胞壁降解相关酶如多聚半乳糖醛酸酶、果胶甲酯酶、纤维素酶等活性,但明显抑制了果皮褪绿转黄。

目前认为与果实软化相关的酶主要有聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase, PG)、纤维素酶 (cellulase)、果胶甲酯酶 (pectinmethylesterase, PME) 等。PG在细胞壁结构改变过程中起着重要作用,它可催化果胶分子中的 α -1,4-半乳糖苷键的裂解,从而参与果胶降解,进而促进果实软化^[18]。一些果实在成熟时伴随着绿色向黄色或红色的转变,PG

酶活性显著增加^[18]。李曜东等^[19]的研究表明,番茄果实颜色由绿色变为全红的各个阶段中,PG活性逐渐升高;低PG活性虽然可延长果实的成熟期和贮藏寿命,但同时也抑制了番茄红素的合成积累,PG活性高,结果则反之,从而认为PG活性的高低与番茄红素的合成与积累有关。本研究表明,在后熟过程中香蕉果皮PG活性持续增加,与20°C相比,30°C显著促进了PG活性的提高和加速了果皮软化,但抑制了果皮褪绿转黄。由于香蕉果皮软化与褪绿转黄是完全不同的两个生理过程,我们认为,果皮颜色变化与PG活性没有直接的关系,都是后熟生理反应的结果。PME作用于水解半乳糖醛酸链上的甲(醇)基,催化果胶酯酸转化成果胶酸,从而形成利于PG作用的条件;纤维素酶则对细胞壁中的骨架结构—半纤维素起降解作用,二者和其它水解酶一起作用,促进了果实的软化^[18]。本研究中,香蕉后熟过程中PME、纤维素酶活性逐渐提高,而且温度越高,酶活性也提高越快,与果实软化的

趋势一致。

香蕉果肉中可溶性糖的积累属淀粉转化型,即由淀粉降解、转化为可溶性糖^[20]。本研究表明香蕉果皮可溶性糖的积累也是淀粉转化型,30℃后熟的香蕉果皮在1 d后淀粉含量即急剧下降,同时伴随着可溶性糖含量的迅速升高,且含量一直高于20℃的。在许多果实中,果皮可溶性糖含量与果皮颜色具有密切关系。Huff在体外培养夏橙(*Citrus sinensis*)果皮时,培养基中含糖量调节着果皮叶绿体与有色体之间的转变,果皮含糖量、叶绿素含量及颜色发生相应改变,说明高含量可溶性糖在调节叶绿体类囊体解体及叶绿素降解中起到了重要作用^[21]。Takagi等发现夏季高温抑制了温州蜜柑(*Citrus unshiu*)果皮中可溶性糖的累积,从而抑制了果皮的褪绿^[22]。Roux等也发现柑桔果皮可溶性糖含量与果皮脱绿存在密切关系^[23]。从我们的研究结果来看,30℃后熟的香蕉果皮可溶性糖含量上升快,含量也比20℃的高,但果皮褪绿转黄却受到抑制,与在柑桔上得到的结果相反。最近的研究表明,糖不仅可作为呼吸底物为植物的生长发育提供能量和代谢中间产物,而且还具有信号分子的功能,调节相关基因的表达和酶活性,从而调控植物的生长发育、衰老和逆境反应,其中葡萄糖和果糖是最重要的糖信号分子^[24-25]。我们用外源葡萄糖和果糖离体培养香蕉果皮,在20℃下能抑制离体香蕉果皮的褪绿转黄(数据未列出),因此,在香蕉青皮熟形成过程中,可溶性糖有可能作为信号分子参与了叶绿素降解途径的调节。香蕉果皮葡萄糖和果糖含量变化与叶绿素降解之间的关系尚需进行深入研究。

通过比较香蕉在20℃和30℃下后熟期间果皮色泽、淀粉转化及几种细胞壁降解相关酶活性的变化,表明香蕉青皮熟的形成可能与果皮高的可溶性糖含量相关,而与果皮软化相关的生理变化无关。

参考文献

[1] Chen W X(陈维信), Su M X(苏美霞). Studies on physiology and technology of the ripening of banana [J]. J S China Agri Univ(华南农业大学学报), 1993, 14(2): 102-106.(in Chinese)

[2] Seymour G B, Thompson A K, John P. Inhibition of degreening in the peel of bananas ripened at tropical temperatures II. Role of ethylene, oxygen and carbon dioxide [J]. Ann Appl Biol, 1987, 110: 153-161.

[3] Blankourm H D, Jeger M J, John P, et al. Inhibition of degreening in the peel of bananas ripened at tropical temperatures [J]. Ann Appl Biol, 1990, 117: 175-186.

[4] Chiang S C, Tang C Y, Chao C P. An integrated approach for the prevention of uneven degreening of bananas in Taiwan [J]. Acta Hort, 1998, 490: 511-518.

[5] Eaks M S. Ripening, respiration, and ethylene production of 'Hass' avocado fruit at 20 to 40°C [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1978, 103: 576-578.

[6] Ogura N, Nakaya H, Takehana H. Studies on the storage temperature of tomato fruit [J]. J Agri Chem Soc Jpn, 1975, 49: 189-196.

[7] Cohen E. The effect of temperature and humidity during degreening on colouring of 'Shamouti' orange fruit [J]. J Hort Sci, 1978, 53: 143-146.

[8] Burg S P. The physiology of ethylene formation [J]. Annu Rev Plant Physiol, 1962, 13: 265-302.

[9] Chen W X(陈维信), Wu Z X(吴振先), Zhu J Y(朱剑云). Studies on the effect of membrane lipid peroxides and permeability of banana fruit during storage under high temperature stress [J]. J S China Agri Univ(华南农业大学学报), 1998, 19(4): 77-81.(in Chinese)

[10] Li Y(李云), Qiang C M(钱春梅), Lu W J(陆旺金), et al. Changes of peel colour of banana and plantain fruits during ripening at different temperatures [J]. Acta Hort Sin(园艺学报), 2006, 33(3): 617-620.(in Chinese)

[11] Hu W H(胡位荣), Zhu X R(朱西儒), Wang Z X(王正询), et al. Advances on postharvest physiology of banana fruit [J]. J Guangzhou Univ(广州大学学报), 2003(23): 228-234.(in Chinese)

[12] Zhuang J P(庄军平). Studies on the physiological and molecular basics of ripening and softening of banana fruit [D]. Guangzhou: South China Agriculture University, 2004: 3-75.(in Chinese)

[13] Li W(李雯). Studies on the relationships between sucrose phosphate synthase (SPS) and the ripening, senescence and sugar metabolism and on the expression of SPS gene in harvested banana fruit [D]. Guangzhou: South China Agriculture University, 2006: 5-94.(in Chinese)

[14] Lu W J, Ryohei N, Yasutaka K, et al. Cloning and expression analysis of an XET cDNA in the peel and pulp of banana fruit ripening and softening [J]. Acta Bot Sin, 2004, 46(3): 355-362.

[15] Mcguire R G. Reporting of objective colour measurements [J]. Hortscience, 1992, 27(12): 1254-1225.

[16] Xu C J(徐昌杰), Chen W J(陈文峻), Chen K S(陈昆松). A Simple method for determining the content of starch-Iodine colorimetry [J]. Biotechnology(生物技术), 1998, 8(2): 41-43.(in Chinese)

[17] Li C Y(李春燕), Zhang G L(张光伦), Zeng X L(曾秀丽), et al. The relationship between the activity of enzyme in cell wall and sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] fruit texture [J]. J Sichuan Agri Univ(四川农业大学学报), 2006, 24(1): 73-76.(in Chinese)

[18] Zhu M Y(朱明月), Shen W T(沈文涛), Zhou P(周鹏). Research advance on mechanism of fruit ripening and softening [J]. Mol Plant Breed(分子植物育种), 2005, 3(3): 421-426.(in Chinese)

[19] Li Y D(李曜东), Wei Y N(魏玉凝), Gu S R(顾淑荣). The relation between PG and ripening of tomato fruit [J]. Chin Bull Bot(植物学通报), 2004, 21(1): 79-83.(in Chinese)

[20] Chen J W(陈俊伟), Zhang S L(张上隆), Zhang L C(张良诚). Sugar

- transport, metabolism, accumulation and their regulation in fruits [J]. *Acta Photophysiol Sin*(植物生理与分子生物学学报), 2004, 30(1): 1-10.(in Chinese)
- [21] Huff A. Sugar regulation of plastid inter-conversions in epicarp of citrus fruit [J]. *Plant Physiol*, 1984, 76: 307-312.
- [22] Takagi T, Mukai H, Ichikawa T. Effects of temperature and sugar accumulation in fruits on color development of satsuma mandarin [J]. *J Japn Soc Hort Sci*, 1994, 62: 725-731.
- [23] Roux C, Huysamer M. The effect of a preharvest ethephon application on rind colour development and flavedo sugar content in 'Miho Wase Satsuma' [J]. *J S Afri Soc Hort Sci*, 1997, 72: 51-54.
- [24] Wang Y H(王玉华), Yang Q(杨清), Chen M(陈敏). Sugar sensing and signaling in plants [J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), 2004, 21(3): 273-279.(in Chinese)
- [25] Shan S M(单守明), Dong X Y(董晓颖), Wang Y Z(王永章), et al. Sugar signal and sugar-mediated transduction mechanism in plants [J]. *Chin Agri Sci Bull*(中国农学通报), 2004, 20(3): 12-16.(in Chinese)