

辣椒果实成熟过程中硬度及相关生理生化指标的变化

程杰山¹, 沈火林¹, 井玉芳¹, 杨 辉¹, 孙秀波², 于 岩²

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院蔬菜系, 北京 100094; 2. 中国农业大学 烟台校区农学系, 山东 烟台 264002)

摘要: 选用 2 个不同硬度的辣椒品系, 在果实成熟的不同时期测定其果肉硬度变化, 并测定了与硬度相关的原果胶、果胶和纤维素的含量以及促进细胞壁物质分解的 PME、PG、纤维素酶和 β -半乳糖苷酶等水解酶的活性。结果表明: 果实硬度在转色期最大, 随着果实成熟, 可溶性果胶含量增加, 纤维素含量从转色期开始基本呈下降趋势, 从幼果期到转色期 PME 酶的活性呈上升趋势, 529 品系酶活性在转色期达到最大, 585 品系在绿熟期酶活性达到最大值。2 个品系的 PG 酶活性不断上升并在红熟期达到最大值。纤维素酶的活性也呈上升趋势并在转色期达到最大值。2 个品系的半乳糖苷酶活性在红熟期达到最大值。辣椒果实成熟软化过程中, 其硬度的变化与果胶、纤维素等物质的变化有显著相关性, 而这些物质的变化又与促进这些物质水解的细胞壁水解酶活性的变化相一致。在果实成熟的不同时期, 这些硬度的相关生理生化指标可以反映出果实的硬度特点, 在耐贮运辣椒育种过程中有一定参考价值。

关键词: 辣椒; 硬度; 果胶; 纤维素; 细胞壁水解酶

中图分类号: S641.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2006)06-0075-04

The Changes of Characters Related to Fruit Firmness of Two Pepper (*Capsicum annuum* L.) Lines During Fruit Ripening

CHENG Jie_shan¹, SHEN Huo_lin¹, JING Yu_fang¹,
YANG Hui¹, SUN Xiu_bo², YU Yan²

(1. Department of Vegetable, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;
2. Department of Agronomy, China Agricultural University, Yantai 264002, China)

Abstract: Two pepper (*Capsicum annuum* L.) lines with different fruit firmness were selected and their fruit firmness was measured during the fruit ripening. Meanwhile, the characters related to the fruit firmness such as contents of primary pectin, soluble pectin, and cellulose were monitored, and the cell wall hydrolases such as Pectin Methyl_esterase (PME), Polygalacturonase (PG), β -Galactosidase, and Cellulase were also analyzed during ripening. The results showed that the maximal fruit firmness of both lines was at stage III (color turning), then the fruit firmness decreased during ripening, concomitant with the increase of soluble pectin content. The cellulose content of Line 529 decreased after stage I (premature fruit stage), but Line 585 changed a little. The PME activity of Line 529 was developed from stage I and was maximal at stage III, but the maximal PME activity of Line 585 was at green mature stage. The activity of PG increased continuously and was maximal at stage IV (red mature). The activity of cellulase was increasing during fruit ripening and maximal at stage III. The β -Galactosidase activity of two pepper lines reached the maximal value at the stage IV. These results suggest that the changes of fruit firmness was closely correlated with the contents of soluble pectin and the cellulose, which was further related to the PG, PME, β -Galactosidase and Cellulase activities during fruit ripening. These related characters can reflect the firmness type of pepper fruit and provide information for the pepper breeding of storage and transportation tolerance.

Key words: Pepper; Fruit firmness; Pectin; Cellulose; Cell wall hydrolases

收稿日期: 2006-06-26

基金项目: 农业部结构调整重大项目专项(04-06-02B)

作者简介: 程杰山(1969-), 男, 山西原平人, 硕士, 主要从事蔬菜遗传育种研究工作; 沈火林为通讯作者。

果实成熟软化是一个非常复杂、受遗传基因调控的果实生长发育过程的一部分。虽然其确切的机制仍不清楚,但许多研究表明,果实成熟软化与细胞壁水解酶密切相关^[1]。果实成熟软化的外在表现是硬度下降、质地变软。硬度和质地是果实成熟标准和果实品质的重要指标,影响到果实采前采后处理方法、货价期的长短、风味及其口感等。目前,对辣椒果实成熟软化过程中,细胞壁物质的变化和代谢相关的水解酶活性变化规律及其相互关系的报道较少。本试验对不同硬度的 2 个辣椒品系进行了细胞壁物质含量分析并对相关水解酶进行了系统的分析比较,对于探索辣椒果实成熟软化过程中细胞壁物质与主要相关酶和果实软化的关系以及筛选用于耐贮藏辣椒品系的生化指标具有一定的意义。

1 材料和方法

1.1 试验材料

选择果实较硬的 585 和果实较软的 529(从伏地尖中选出的自交系)2 个羊角型辣椒品系,2005 年春季种植于中国农业大学科学园纱棚中,常规田间管理,第 2~3 层花开放时标记,并分别在果实的幼果期(开花后 15 d 左右)、绿熟期(商品成熟期)、转色期(果实开始变红)和红熟期(果实大部分红色)4 个时期取样进行各项指标的测定。

1.2 果实硬度及相关生理生化指标的测定

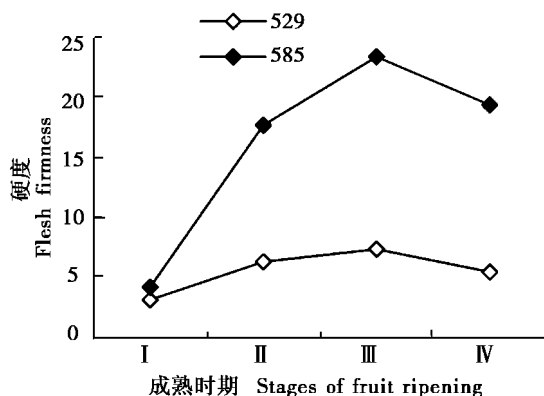
用 FT327 硬度计测定果实中间部位(横径最大处)去皮后的果肉硬度,重复 3 次,每重复测 3 个果实。

生理生化指标测定时均去除果蒂和种子,采用四分法取样。重复 3 次,每重复取 3 个果实。用咔唑硫酸比色法测定果胶、原果胶含量^[2];用蒽酮比色法测定纤维素含量^[3];半乳糖苷酶、纤维素酶、多聚半乳糖醛酸酶(PG)、果胶甲酯酶(PME)活性测定参考 Priya Sethu K M 等^[4]的方法。

2 结果与分析

2.1 果实硬度的变化

辣椒果实硬度的测定结果表明(图 1),在果实生长过程中,果实硬度不断上升直到转色期达到最大,585 品系硬度值是 529 品系的 4 倍左右,以后开始下降,但不同品系下降幅度不同,硬度较低的 529 品系下降幅度较小,硬度较高的 585 品系下降较快。



I. 幼果期; II. 绿熟期; III. 转色期; IV. 红熟期
I. Premature; II. Green mature; III. Turning; IV. Red mature

图 1 辣椒果实成熟过程中果肉硬度的变化

Fig. 1 Firmness changes of pepper fruit during ripening

2.2 果胶与原果胶含量与硬度的变化

529 品系果实的可溶性果胶含量(以鲜重计)在转色期以前不断上升并在转色期达到最高(图 2),随后开始下降,可能是可溶性果胶开始大量降解为果胶酸的缘故;585 品系的可溶性果胶也呈不断上升趋势并在红熟期达到最大值。原果胶含量(以鲜重计)变化品系间有较大差别(图 2),529 品系在红熟期原果胶含量达到最大值,585 品系的原果胶含量在果实成熟过程中变化不大。统计分析表明:529,585 品系果实硬度与原果胶含量之间呈显著正相关(相关系数分别为 0.937 1, 0.729 6),与可溶性果胶之间也均存在显著正相关(相关系数分别为 0.816 9, 0.934 2)。推测辣椒果实成熟过程中主要是原果胶降解,可溶性果胶发生较大变化,从而引起了果实硬度的改变。

2.3 与果胶降解有关的 PG, PME 和半乳糖苷酶等酶活性的变化

在果实成熟过程中,细胞壁半乳糖的丧失是由于 β -半乳糖苷酶(外切半乳糖酶)活性(以鲜重计)增加造成的。细胞壁半乳糖的丧失对果实软化起重要作用,也与果实质地改变密切相关。在外切半乳糖酶活性抑制的果实中硬度增加,可能是由于直接减少了半乳糖的丧失,增加了果胶半乳糖侧链,从而增加了细胞壁机械强度。辣椒果实半乳糖苷酶活性的变化结果表明(图 3),2 个尖椒品系的半乳糖苷酶活性从转色期开始急剧上升,在红熟期达到最大值;甜椒类型品系的半乳糖苷酶活性变化不大,说明辣椒果实类型不同,在果实成熟过程中果胶半乳糖侧链的降解程度有较大差别。

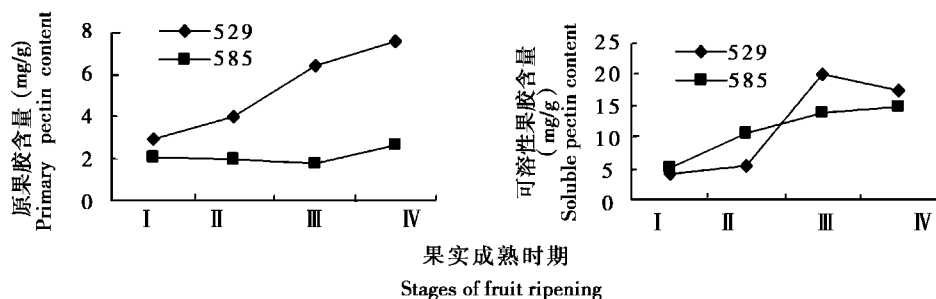
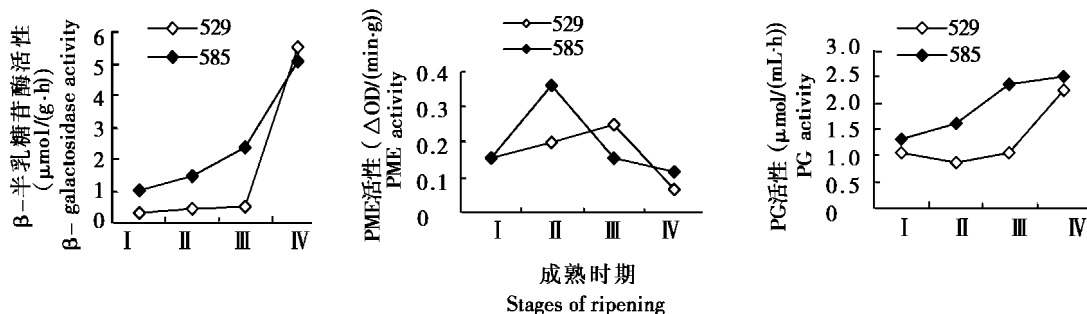


图2 辣椒果实成熟过程中原果胶、可溶性果胶含量变化

Fig. 2 Primary pectin and soluble pectin content changes of pepper fruit during ripening

PME(以鲜重计)广泛存在于高等植物中,它的作用是水解果胶分子中甲酯化的 C_6 羧基,使之生成多聚半乳糖醛酸和甲醇,果胶去甲酯化后,其余3个羧基基团改变了细胞壁pH和电位,以Ca桥连接的果胶胶体结构容易被PG降解,因此PME的活动似乎是PG活动的必要前提^[5]。辣椒果实PME酶的活性测定结果(图3)表明,529品系从绿熟期到转色期迅速上升并在转色期达到最大值,585品系在绿熟期就达到最大值。其活性的高峰比PG酶的活性提前一个时期说明在果胶的溶解和降解过程中,PME酶首先发挥作用,随后其活性迅速下降。

PG酶(以鲜重计)可以催化果胶分子中 $\alpha(1,4)$ 聚半乳糖醛酸的裂解,从而参与果胶的降解,促进果实软化。2个辣椒品系的PG酶活性在果实成熟过程中都呈上升趋势直到红熟期达到最大值(图3),然后开始下降。而辣椒果实中可溶性果胶的含量在转色期到红熟期也达到最大值,说明从转色期到红熟期果实中可溶性果胶含量发生很大变化,最主要的原因可能就是PG酶活性的增加。在PG酶活性最大时,原果胶的含量下降,而果实的硬度也显著下降,说明原果胶的含量对辣椒果实的硬度变化也有较大影响。

图3 辣椒果实成熟过程中 β -半乳糖苷酶、PME、PG酶活性的变化Fig. 3 β -galactosidase, PME and PG activity changes of pepper fruit during ripening

统计分析本试验中可溶性果胶与上述3种酶活性之间的相关性,529品系与PG酶、PME酶和半乳糖苷酶的相关系数分别为0.5289, 0.0028和0.4786,585品系与PG酶、PME酶和半乳糖苷酶的相关系数分别为0.9595, -0.1878和0.7197,说明529品系可溶性果胶的变化与PG酶和半乳糖苷酶的关系比较密切而与PME关系不大,而585品系可溶性果胶的变化与PG与半乳糖苷酶呈显著正相关,但与PME的相关性也不大。

2.4 纤维素含量与纤维素酶活性的变化

细胞壁中胶层多糖在果实成熟过程中发生大量降解被认为是造成果实软化的主要原因^[6],引起这一解聚作用的酶还没有完全明确,可能包括纤维素酶(以鲜重计),但在高等植物中大多不含有在微生物纤

维素酶中发现的纤维素结合位点,因而高等植物的纤维素酶不能降解晶体纤维素^[7]。辣椒纤维素含量(以鲜重计)分析结果(图4)表明,软果型的529品系从幼果期纤维素就开始下降,到红熟期与最初纤维素含量相比下降幅度较大,硬度与纤维素含量之间的相关系数为-0.9503,二者呈显著负相关;硬果型585品系的纤维素含量呈略微上升趋势,在果实成熟过程中没有下降,硬度与纤维素之间的相关系数为0.5791,说明纤维素对果实的硬度有很大影响。纤维素酶的活性(图4)与纤维素含量(以鲜重计)的变化趋势一致,529品系的纤维素酶活性从幼果期到绿熟期呈上升趋势,并在绿熟期达到最大,以后逐渐降低,585品系的纤维素酶活性变化比较平稳。因此,可以推断纤维素的降解与纤维素酶具有相关性。统计分析表明,585

品系的纤维素与纤维素酶相关不显著,相关系数为 0.389 9,529 品系的纤维素和纤维素酶呈显著负相关,

相关系数为-0.685 7。可见纤维素的降解比较复杂,可能有另外多种因子参与其中。

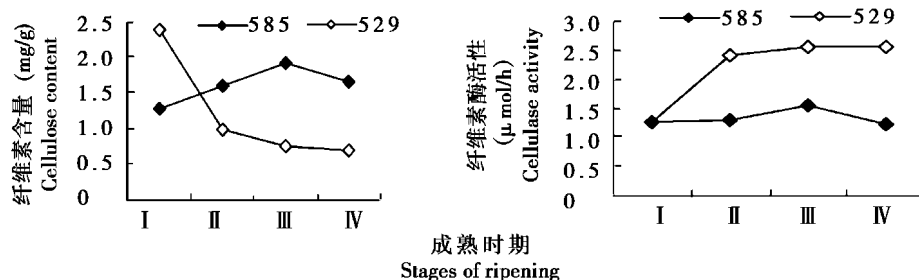


图4 辣椒果实成熟过程中纤维素含量与纤维素酶活性的变化

Fig. 4 Cellulose content and cellulase activity changes of pepper fruit during ripening

3 讨论

从本试验可以看出, PME 酶活性增加, 使果胶去甲酯化, 随后 PG 酶活性增加, 可溶性果胶含量增加, 辣椒果实硬度开始下降。同时, 有研究表明, β -半乳糖苷酶的降解对果实软化的影响可能是间接的, 也许是通过促进成熟过程中细胞壁通透性, 促使其他酶对果胶和其他多聚物底物的接近, 因而加速了结构多糖的降解^[8]。另外, 不同类型的辣椒品系, β -半乳糖苷酶活性变化规律也不相同, 说明不同类型的果实细胞壁结构的类型有较大差别。Gross 等的试验表明: 在尖椒果实中, β -半乳糖苷酶的活性在成熟过程中增加 15 倍^[9]。这与本试验结果中该酶的活性在转色期后大量增加的结果相一致。

尽管由于品系不同在果实中检测到的 PG 含量差异很大, 但 PG 活性增加长期以来一直被认为与果实成熟密切相关, 在成熟过程中的番木瓜^[10]、鳄梨^[11]、番茄^[12]和桃^[13]的果实中, PG 活性很高, 表明了 PG 与果实成熟的密切关系。杨德兴等^[14]发现, 猕猴桃果实成熟过程中 PG 的活性很高, 果实软化和果胶的溶解呈显著的相关性。薛彦斌等^[15]研究认为, 青梅果实采后急速软化的主要原因在于 PG, PME 的活性增大, 导致果内细胞壁多糖物质中的果胶物质含量发生变化, 特别是水溶性果胶含量上升。在本试验中, PG 酶的活性与可溶性果胶含量的变化关系最为密切, 但可能 PG 的作用是与其他一些水解酶协同作用造成了可溶性果胶的含量增加。

综合分析, 辣椒果实成熟过程中, 果实硬度变化与可溶性果胶含量的变化、纤维素含量的变化都有较为密切的联系, 这些细胞壁物质的变化与促进这些物质水解的细胞壁水解酶 PG, PME, 半乳糖苷酶和纤维素酶的活性变化趋势相一致。这些生理生化特性对筛选耐贮藏辣椒材料提供一定的理论参考。

参考文献:

- [1] Huber D J. The role of cell wall hydrolases in fruit softening [J]. Hort. Rev., 1983, 5: 169- 219.
- [2] 茅林春, 应铁进. 桃果实败坏与果胶质变化和细胞壁结构的关系[J]. 植物生理学报, 1999, 25(2): 121- 126.
- [3] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [4] Priya Sethu K M. Post-harvest biochemical changes associated with the softening phenomenon in Capsicum Annuum Fruits [J]. Phytochemistry, 1996, 43(4): 961- 966.
- [5] 王贵禧, 韩雅珊. 猕猴桃果实中 PME, PG 及其抑制因子的研究[J]. 中国农业大学学报, 1998, 3(1): 88- 94.
- [6] Brummell D A, Harpster M H, Civello P M, *et al.* Modification of expansin protein abundance in tomato fruit alters softening and cell wall polymer metabolism during ripening [J]. Plant Cell, 1999, 1: 2203- 2216.
- [7] Brummell D A, Lashbrook C C, Bennett A B. Plant endo- β -D-Glucanases: structure, properties and physiological function. In: Enzymatic conversion of biomass for fuels production [M]. American Chemical Society, 1994: 100- 129.
- [8] McCartney L, Omerod A P, Gidley M J, *et al.* Temporal and spatial regulation of pectic β -D-Galactan in cell walls of developing pea cotyledons: implications for mechanical properties [J]. Plant J, 2000, 22: 105- 113.
- [9] Gross K C, Watada A E, Meung Su Kang, *et al.* Biochemical changes associated with the ripening of hot pepper fruit [J]. Plant Physiol, 1986, 66: 31- 36.
- [10] Paull R E, Chen N J. Post harvest variation in cell wall degrading enzymes of papaya during fruit ripening [J]. Plant Physiol, 1983, 72: 382- 385.
- [11] Awad M, Young R E. Post harvest variation in cellulose polygalacturonase and pectin methylesterase in avocado fruit in relation to respiration and ethylene production [J]. Plant Physiol, 1979, 64: 306- 308.
- [12] Pressey R. Changes in polygalacturonase isoenzymes and converter in tomato during ripening [J]. Hort Science, 1986, 21(5): 1183- 1185.
- [13] Pressey R, Hinton D M, Avants J K. Development of polygalacturonase activity and solubilization of pectin in peaches during ripening [J]. J Food Sci, 1971, 36: 1070- 1073.
- [14] 杨德兴. 猕猴桃衰老过程中 PG、果胶质和细胞壁超微结构的变化[J]. 园艺学报, 1993, 20(4): 341- 345.
- [15] 薛彦斌, 久保廉隆, 稻叶昭次, 等. 青梅果实的采后成熟特性和肉质变化[J]. 中国南方果树, 1999, 28(3): 34- 37.