

猕猴桃果实软化衰老机理初探

吴焯, 王仁才, 张政兵

(1. 中南林业科技大学资源与环境学院, 湖南长沙410004; 2. 湖南农业大学园艺园林学院, 湖南长沙410128; 3. 湖南省植保站, 湖南长沙410005)

摘要 [目的] 探讨猕猴桃果实软化衰老的机理。[方法] 用1%、3% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理丰悦和金魁, 测定猕猴桃软化衰老过程中淀粉酶、纤维素酶、PG酶活性及果胶和淀粉的含量。[结果] 丰悦采后60 d 淀粉酶活性达到峰值, 金魁采后40 d 达到峰值, 为4.57 U ng FW, 但均低于清水对照。两品种采后50 d PG酶活性达到峰值, 纤维素酶活性20 d 达到峰值, 均低于对照。对照果实的水溶性果胶在开始阶段上升速度大于钙处理的, 钙处理的金魁水溶性果胶含量在80 d 时低于丰悦, 表明丰悦果实软化速度大于金魁。两品种钙处理的猕猴桃果实淀粉含量高于对照。[结论] 淀粉和原果胶的降解是猕猴桃果实软化衰老的主要原因。钙处理能降低猕猴桃果实淀粉酶和纤维素酶活性, 降低PG酶活性的峰值, 有效减缓淀粉降解, 延缓猕猴桃软化衰老。

关键词 猕猴桃; 酶; 软化衰老; 钙

中图分类号 S663.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)03-00881-03

Primary Exploration on the Softening Senescence Mechanism of Kiwifruit Fruit

WU Lian et al (College of Resource and Environment, Center South Forestry University, Changsha, Hunan 410004)

Abstract [Objective] The study aimed to explore the softening senescence mechanism of kiwifruit fruit. [Method] Kiwifruit varieties Fengyue and Jinkui were treated with 1% and 3% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ and the amylase, cellulase, PG enzyme activities and pectins and starch contents in the softening senescence course of kiwifruit were determined. [Result] The amylase activity in Fengyue reached peak value on the 60th d after harvest and that in Jinkui reached peak value on the 40th d after harvest, being 4.57 U ng(FW), but they were all lower than that of CK (clear water). The PG enzyme activities in two varieties reached peak value on the 50th d after harvest and cellulase activity reached peak value on the 20th d after harvest, both them were lower than CK. Water soluble pectins content in the contrast fruit increased faster than that in calcium treatment during the beginning stage. The water soluble pectins content in Jinkui in calcium treatment was lower than that in Fengyue on the 80th day, showing that the softening speed of Fengyue fruit was bigger than that of Jinkui. The starch contents in fruits of 2 kiwifruit varieties in calcium treatment were higher than that in CK. [Conclusion] The starch and original pectins degradations were the main reason for the softening senescence of kiwifruit fruit. Calcium treatment could reduce amylase and cellulase activities in kiwifruit fruit, decrease peak value of PG enzyme activity and slow starch degradation effectively and delay the softening senescence of kiwifruit fruit.

Key words Kiwifruit; Enzyme; Softening and senescence; Calcium

目前, 关于猕猴桃果实采后生理生化变化及其调控措施的报道较多。陈昆松等^[1-2]认为 - 半乳糖苷酶、LOX、淀粉酶、多聚半乳糖醛酸酶(PG)和纤维素酶是与猕猴桃果实软化衰老密切相关的酶。淀粉作为苹果果实发育周期中碳水化合物代谢过程的一种暂时贮存物, 对于维持果实的库强和正常发育具有重要的意义。杨德兴等^[3]认为果胶质是构成细胞初生壁和胞间中胶层的主要成分, 在果实成熟之前呈不溶状态, 即原果胶。这时果肉质地坚硬, 细胞结构完整。在果实后熟过程中, 随着PG活性的不断提高, 原果胶逐步降解为可溶性果胶。细胞结构也随之受损, 果肉硬度迅速下降。随着衰老进程的不断加深, 细胞膜的透性逐渐增加, 电解质大量外渗, 最终导致细胞结构解体。因此, 抑制或减缓果肉组织中PG活性的提高, 可能会为低温猕猴桃贮藏技术的发展开辟一条新的途径。

1 材料与方 法

选用湖南省园艺研究所10年生中华猕猴桃品种丰悦(*Actinidia chinensis* cv. Fengyue)和美味猕猴桃品种金魁(*Actinidia deliciosa* cv. Jinkui)为试验材料, 丰悦为早熟品种, 果实近卵圆形, 表面绒毛脱落, 长沙地区9月中旬成熟; 金魁为晚熟品种, 果实为椭圆形或圆柱形, 果面密被褐黄色糙毛, 10月中旬成熟。

1.1 试验设计与处理方法 丰悦和金魁品种均设3个处理, 即F₁为1% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ + NAA 100 ng/L 浸果处理; F₂为3% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ + NAA 100 ng/L 浸果处理; CK为清水浸果处理作

对照。

各供试果实采回后当天运回实验室, 选择大小均匀、无明显病虫害和机械伤的果实作为试验用果。浸果15 min。搅动溶液, 促进吸收。处理果实晾干后用塑料保鲜袋(0.05 mm厚的透湿聚乙烯袋)分袋包装。在0~4℃条件下冷藏, 每隔20 d测定1次各项指标。

1.2 测定指标与方法 粗酶液的联合提取: 在0~4℃条件下进行。参考彭丽桃等^[4]的方法, 将1 g猕猴桃样品在液氮中研磨5~10 min, 加提取缓冲液0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH值7.4, 含6% NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1.5% PVPP) 5 ml, 捣碎匀浆, 0~4℃、10 000 g离心30 min, 上清液为酶粗提取液, 用于酶的活性分析。PG酶活性测定参见文献[5]。纤维素酶活性测定参见文献[6-7]。淀粉酶活性、淀粉、果胶含量测定参见文献[8]。

2 结果与分析

2.1 淀粉酶活性变化 在低温贮藏时, 两供试品种不同处理果实在采后淀粉酶活性变化趋势相似(图1、2)。丰悦果实在采后60 d达到峰值, 金魁果实在采后40 d达到峰值[为4.57 U ng(FW)]。这与王贵禧等^[9]用浸钙处理时淀粉酶达到高峰的时间相同。同时, 两品种F₁和F₂处理的果实淀粉酶活性峰值均低于对照, 且钙处理能明显抑制淀粉酶的活性。说明钙处理能有效降低猕猴桃果实淀粉酶活性, 从而延缓果实中淀粉的降解, 维持果实的硬度, 延缓果实软化衰老。

2.2 PG活性的变化 丰悦和金魁两个品种果实采后PG酶活性的变化趋势相似(图3、4)。贮藏初期, PG酶活性较低, 在采后50 d达到峰值。丰悦对照果实PG酶活性峰值[4.26 U ng(FW)]高于F₁和F₂处理[3.52、3.30 U ng(FW)], 而金

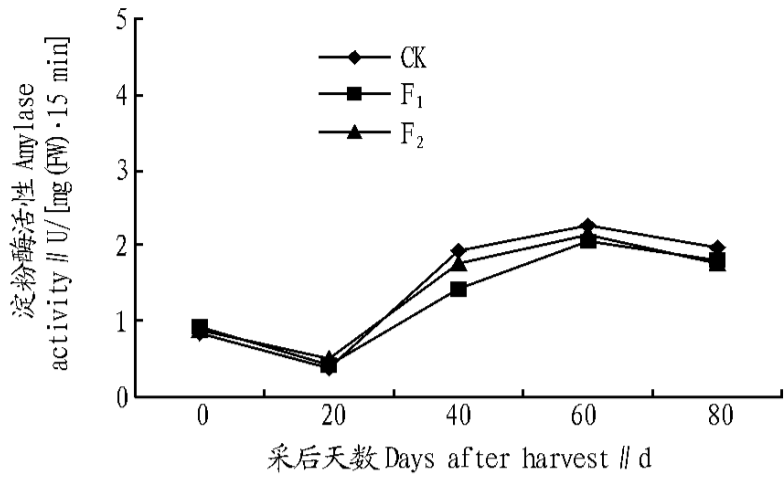


图1 不同处理丰悦果实淀粉酶活性变化

Fig. 1 Changes of amylase activity in Yufeng fruit under different treatment

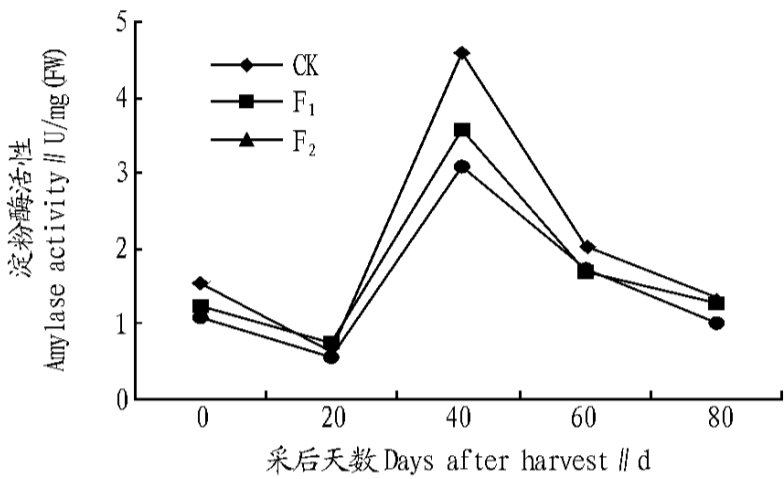


图2 不同处理金魁果实淀粉酶活性变化

Fig. 2 Changes of amylase activity in Jinkui fruit under different treatment

魁对照果实PG酶活性峰值[3.93 U ng(FW)] 高于F₁ 和F₂ 处理3.59 3.46 U ng(FW)。说明钙处理能有效降低PG酶活性峰值。

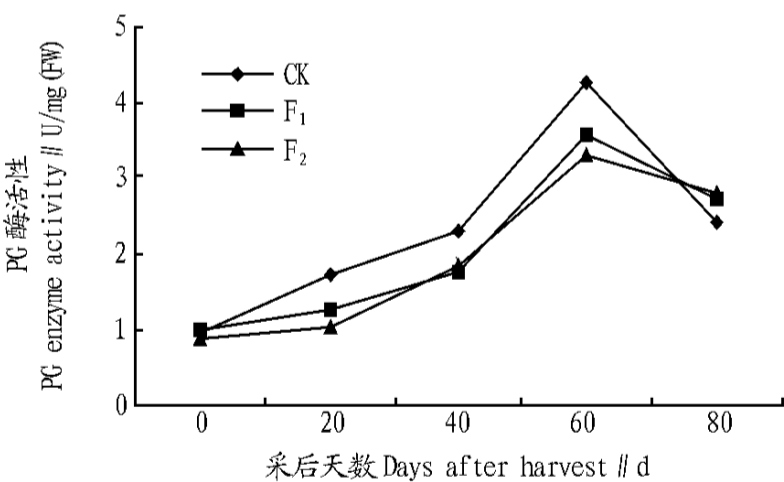


图3 不同处理丰悦果实PG酶活性变化

Fig. 3 Changes of PGenzyme activity in Yufeng fruit under different treatment

2.3 纤维素酶活性变化 两供试品种各处理纤维素酶的活性变化相似, 均在20 d 达到峰值, 其中F₁ 和F₂ 处理的酶活性均低于对照(图5.6)。钙处理可显著降低贮藏过程中纤维素酶的活性, 其中金魁品种处理效果较丰悦更明显。

2.4 水溶性果胶含量的变化 各处理猕猴桃果实在贮藏过程中水溶性果胶整体呈上升趋势(图7.8)。对照处理的丰悦果实水溶性果胶在采后20 d 后上升速度比F₁ 和F₂ 处理要快, 从20 d 的0.26% 增加到40 d 的0.47%, 而F₁ 则从0.27% 增加到0.30%。对照处理的金魁果实水溶性果胶在开始阶段上升速度大于F₁ 和F₂ 处理。在采后40 d, 金魁果实的果胶含量变化减缓, 采后80 d 时水溶性果胶含量与对照无明显

差异。金魁果实水溶性果胶含量在80 d 时低于丰悦。

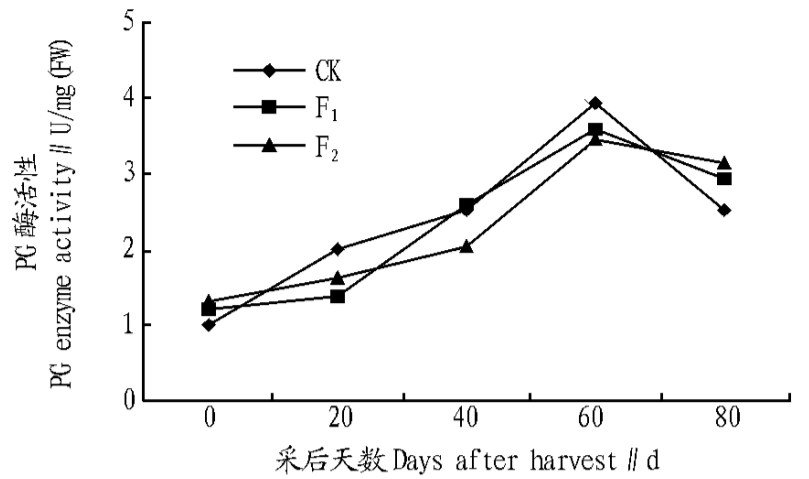


图4 不同处理金魁果实PG酶活性变化

Fig. 4 Changes of PG enzyme activity in Jinkui fruit under different treatment

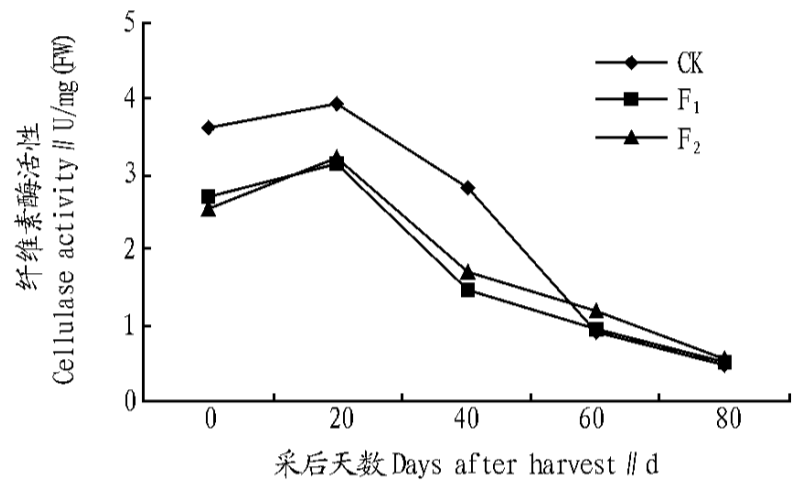


图5 不同处理丰悦果实纤维素酶活性变化

Fig. 5 Changes of cellulase activity in Yufeng fruit under different treatment

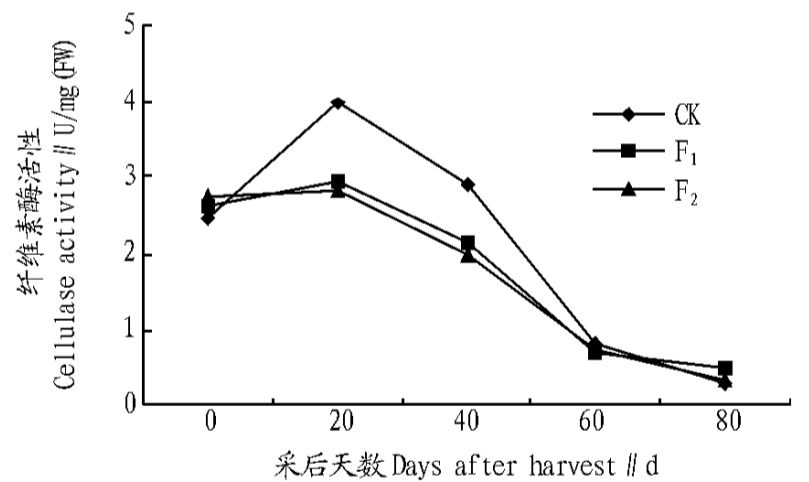


图6 不同处理金魁果实纤维素酶活性变化

Fig. 6 Changes of cellulase activity in Jinkui fruit under different treatment

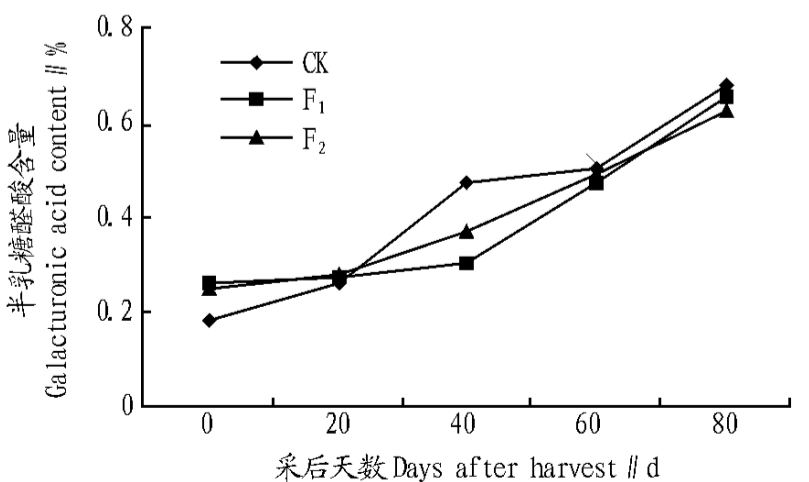


图7 不同处理丰悦果实水溶性果胶半乳糖醛酸含量变化

Fig. 7 Changes of galacturonic acid content in water soluble pectin of Yufeng fruit under different treatment

2.5 淀粉含量变化 不同浓度处理的猕猴桃果实淀粉含量

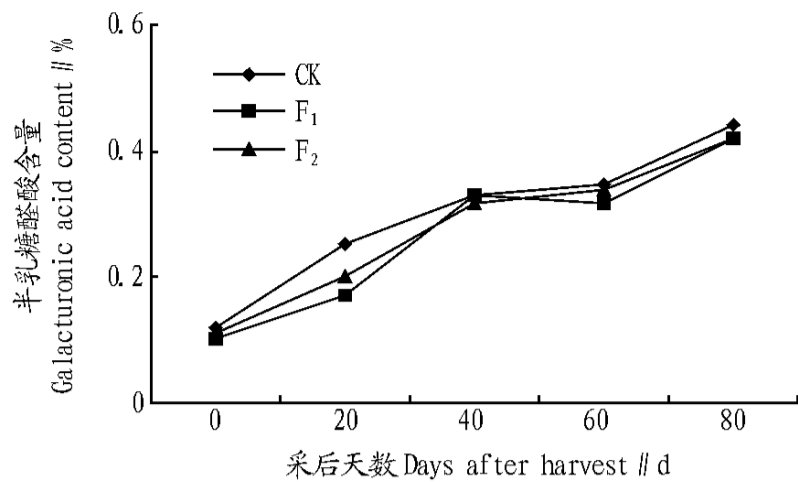


图8 不同处理金魁果实水溶性果胶半乳糖醛酸含量变化

Fig. 8 Changes of galacturonic acid content in water soluble pectin of Jinkai fruit under different treatment

均呈迅速下降趋势(图9、10)。在整个贮藏期间, F₁ 和 F₂ 处理的猕猴桃果实淀粉含量高于对照, 这与果实硬度的变化趋势一致。丰悦果实在采后40 d 淀粉含量迅速下降, 但金魁果实在采后60 d 下降速度加快。整个贮藏期间, 钙处理能有效减缓果实淀粉的降解。F₁ 和 F₂ 处理果实在采后20 d 后其淀粉含量均高于对照, 其中 F₂ 处理的效果更好。猕猴桃果实的淀粉降解与果实的硬度下降和果实的软化衰老密切相关。

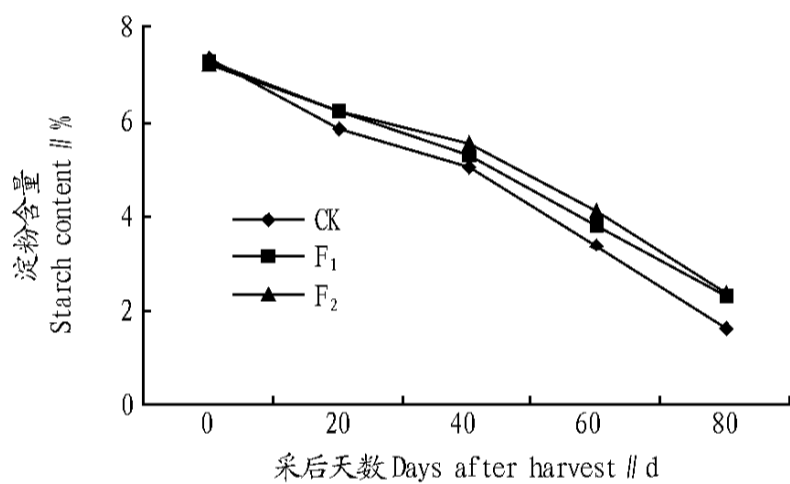


图9 不同处理丰悦果实淀粉含量变化

Fig. 9 Changes of starch content in Yufeng fruit under different treatment

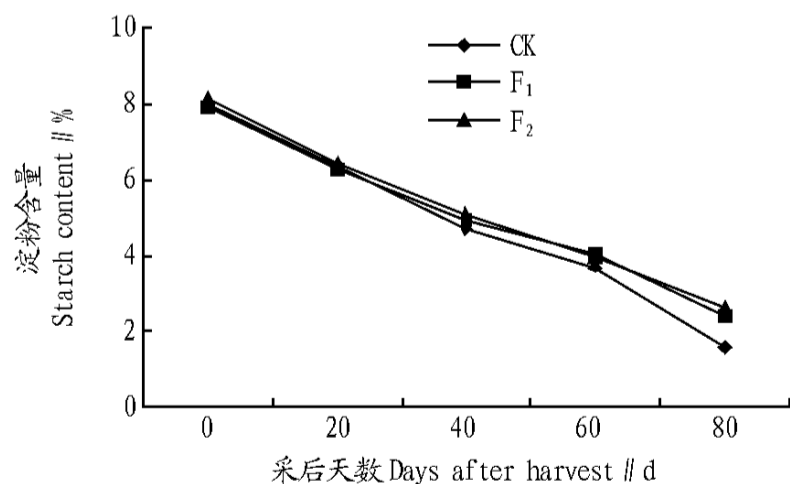


图10 不同处理金魁果实淀粉含量变化

Fig. 10 Changes of starch content in Jinkai fruit under different treatment

3 讨论

3.1 果胶和纤维素代谢 果实软化过程中, 原果胶在 PG 作用下生成水溶性果胶是使果实软化的主要原因之一^[10]。从试验可以看出, PG 活性在 20~60 d 时迅速提高, 水溶性果胶迅速上升, 此时也是果肉硬度的快速下降区。由此可以推测, 猕猴桃果肉变软的主要原因之一可能是原果胶降解为水溶性果胶的结果, 而这种果胶降解的直接原因可能是由于

PG 活性的不断提高^[11]。丰悦和金魁两个品种果实采后 PG 酶活性的变化趋势相似。贮藏初期, PG 酶活性较低, 在第 50 天达到峰值。而水溶性果胶含量变化从试验结果来看: 猕猴桃中随着 PG 酶的活性不断升高, 原果胶快速降解, 水溶性的果胶在整体上呈上升趋势。钙处理采后 20 d 时, PG 酶的活性低于对照, 此时处理的水溶性果胶也低于对照, 说明钙处理对于果胶的降解和 PG 酶活性有影响。

在整个果实贮藏期经过 F₁ 和 F₂ 处理的猕猴桃果实的纤维素酶活性低于对照, 可能是钙处理降低了其酶活性, 从而减缓、抑制了纤维素的降解, 延缓了果实的软化和衰老。其中 F₂ 浸果处理效果更好。

3.2 淀粉降解及糖类代谢 猕猴桃果实中的淀粉以直链和支链淀粉的形式贮存在植物体贮存器官果肉中。淀粉的水解有两种途径: 水解途径和磷酸解途径。淀粉磷酸解作用使磷酸根和产物葡萄糖结合在一起产生磷酸葡萄糖, 主要的酶为淀粉磷酸化酶。淀粉的降解可能由 α -淀粉酶、 β -淀粉酶和淀粉磷酸化酶等的协同作用而起作用。果实在采摘后, 猕猴桃果实有一个快速软化阶段, 在这一阶段中起主要作用的淀粉酶, 可以将淀粉水解为糖^[2]。淀粉被水解代谢后, 导致植物细胞的张力下降, 导致果实的软化^[12]。该试验结果也得到同样的结论, 各处理的金魁和丰悦果实的淀粉含量都呈迅速下降趋势, 且经过钙处理的丰悦果实淀粉下降速度明显低于对照。猕猴桃果实在低温贮藏开始后, 淀粉酶一直呈下降趋势, 在 20 d 测定时达到最低。丰悦果实在 40 d 时, 达到峰值 4.57 U [ng(FW) 15 min], 而金魁果实在 60 d 左右达到峰值。淀粉的降解是由淀粉酶的活性引起的, 因此, 凡是影响淀粉酶活性的处理, 如乙烯处理、机械伤、气调贮藏等都将影响淀粉的含量和果实的软化^[13]。说明丰悦果实软化速度大于金魁, 这与测定时果实的硬度下降趋势一致。从测定中可知, 丰悦果实的硬度下降速度大于金魁, 其淀粉酶的活性峰值到达时间也早于金魁果实, 而且丰悦果实淀粉含量也小于金魁。猕猴桃的淀粉含量对维持果实的硬度具有重要的意义, 淀粉与猕猴桃果实的硬度的下降相一致, 进行相关性分析, R 值达 0.98, 可以作为衡量果实衰老软化的一个指标。

参考文献

- [1] 陈昆松, 张上隆. 半乳糖苷酶基因在猕猴桃果实成熟过程的表达[J]. 植物生理学报, 2000, 26(2): 117-122.
- [2] 王贵禧. 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.
- [3] 杨德兴, 戴京晶, 庞向宇, 等. 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.
- [4] 彭丽桃, 杨书珍. 采后两种不同果肉类型油桃软化相关酶活性的变化[J]. 热带亚热带植物学报, 2002, 10(2): 171-176.
- [5] 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.
- [6] 张龙翔. 生化实验技术与方法[M]. 北京: 人民教育出版社, 1981.
- [7] 白宝璋, 李德春. 植物生理生化测定技术[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1995.
- [8] 陈同度. 3,5-二硝基水杨酸比色定糖法[Z]// 生物化学实验指导. 1997: 722-723.
- [9] 王贵禧, 韩雅珊, 于梁. 猕猴桃总淀粉酶活性与果实软化的关系[J]. 园艺学报, 1994, 21(4): 329-333.
- [10] 王仁才, 熊兴耀. 猕猴桃果实采后生理生化变化研究进展[M]// 湖南省园艺学会. 湖南园艺研究. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1999: 95-99.

表2 高吸水种衣剂包衣对秧苗素质的影响

Table 2 Effects of high water absorbing seed coat agent on quality of seedling

处理 Treatment	叶龄 Leaf age	株高 cm Plant height	带蘖数 个/株 No. of tillers per plant	假茎粗 mm Pseudostem thickness	总根数 条/株 Total roots	百苗干重 g 100-root dry weight	
						地上部 Above ground	地下部 Underground
包衣 Coated	6.7	33.2	3.7	5.8	36.2	56.9	12.3
未包衣 CK Uncoated	6.7	37.3	2.9	5.5	30.9	49.1	10.5

2.3 对茎蘖动态的影响 由图1 知,移栽大田后,包衣处理的秧苗植伤轻、返青快,各生育阶段的茎蘖数均明显高于CK。

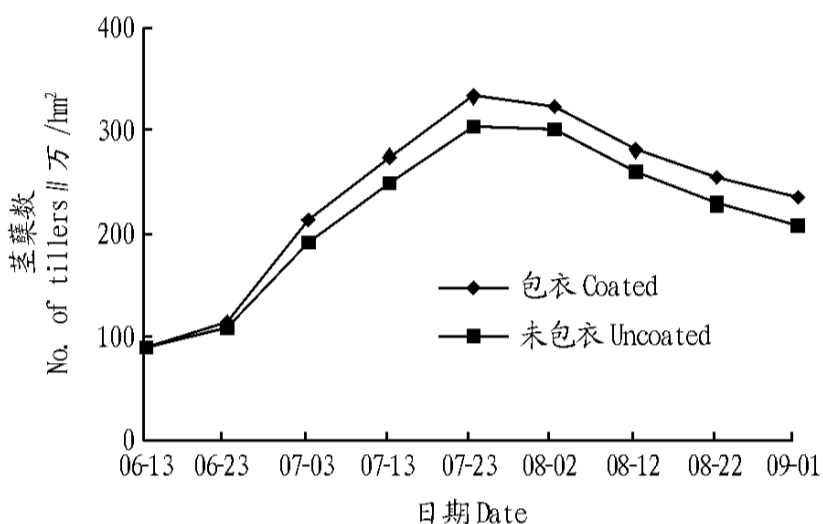


图1 高吸水种衣剂包衣处理对栽后茎蘖动态的影响

Fig. 1 Effects of high water absorbing seed coat agent on tiller dynamic after planted

2.4 对叶面积指数的影响 移栽后,各主要生育期叶面积指数均以包衣处理高。由表3 可知,包衣处理的叶面积指数在有效分蘖临界叶龄期、拔节期、孕穗期、齐穗期、齐穗后30 d 分别比CK 增加20.7%、15.7%、10.4%、10.1%和7.8%。

表3 高吸水种衣剂包衣对水稻各生育期叶面积指数的影响

Table 3 Effects of high water absorbing seed-coat agent on leaf area index at different stages of rice

处理 Treatment	有效分蘖临 界叶龄期 Available tillers in critical leaf age		孕穗期 Btting	齐穗期 Full heading stage	齐穗后30 d 30 d after full heading
	拔节期 Jinting	孕穗期 Btting			
包衣 Coated	2.68	5.01	9.34	8.31	5.70
未包衣 CK Uncoated	2.22	4.33	8.46	7.55	5.29

2.5 对大田干物质积累的影响 移栽后,各生育期干物质积累均以包衣处理高。由表4 可知,包衣处理的干物质积累在有效分蘖临界叶龄期、拔节期、孕穗期、齐穗期、齐穗后30

d 分别比CK 增加15.2%、15.6%、13.6%、12.1%和10.8%。

表4 高吸水种衣剂包衣对水稻各生育期干物质积累的影响 t/hm²

Table 4 Effects of high water absorbing seed-coat agent on dry matter accumulation at different stages of rice

处理 Treatment	有效分蘖临 界叶龄期 Available tillers in critical leaf age			孕穗期 Btting	齐穗期 Full heading stage	齐穗后30 d 30 d after full heading
	拔节期 Jinting	孕穗期 Btting	齐穗期 Full heading stage			
包衣 Coated	1.90	4.29	8.60	15.41	20.13	
未包衣 CK Uncoated	1.65	3.71	7.57	13.75	18.16	

2.6 对产量的影响 生育后期,包衣处理表现秸青籽黄、穗粒结构协调。由表5 可见,包衣处理的理论产量和实际产量分别比CK 增加12.0%和7.3%。包衣处理有效穗数比CK 增加12.2%,每穗总粒数、结实率、千粒重与CK 相仿。

表5 高吸水种衣剂包衣对产量的影响

Table 5 Effects of high water absorbing seed coat agent on yield

处理 Treatment	有效穗 万 hm ² Available tassels	穗粒数 粒 Grains per ear	结实率 % Seed set ting rate	千粒重 g g	理论产量 t/hm ² Theoretical yield	实际产量 t/hm ² Actual yield
包衣 Coated	233.4	188.5	84.3	28.2	10.46	9.83
未包衣 CK Uncoated	208.1	189.1	84.2	28.2	9.34	9.16

3 小结与讨论

(1) 采用高吸水种衣剂包衣进行湿润育秧,可明显提高出苗率、成秧率,减轻苗期病虫害危害,秧苗素质显著提高。移栽大田后,植伤轻、缓苗期短、返青快,分蘖发生量多,各生育期叶面积指数高,干物质积累多,有效穗数多,产量高。

(2) 水稻湿润育秧移栽仍是许多地区重要的稻作方式,但浸种催芽时,由于方法不正确,常常出现烧芽烧苞现象^[5]。采用高吸水种衣剂包衣,干籽落谷,能显著提高种子的出苗率,减轻育秧风险。在温度较低的稻区,可适当延长浸种时间,以不破胸为宜,再包衣播种,以争取早出苗。

参考文献

- [1] 黄年生,张洪熙,徐卯林,等.水稻旱育秧专用药肥缓释高吸水种衣剂及其应用技术[J].中国稻米,2001(1):29-30.
- [2] 杨明德,杨秀宏.水稻专用种衣剂旱育保姆的优势特点与育秧技术[J].农业科技通讯,2007(3):20-21.
- [3] 林益增,彭忠亮,龙卫平,等.早晚稻连作抛秧栽培关键技术[J].江西农业科技,2004(11):15-16.
- [4] 丘永秀.水稻种衣剂在不同育秧方式上的应用效果分析[J].江西农业科技,2002(3):36-37.
- [5] 李必忠,王亮章,谢红梅,等.水稻烂秧的原因及预防措施[J].现代农业科技,2005(10):15-16.

(上接第883页)

- [11] 王贵禧,韩雅珊,于梁.浸钙对猕猴桃果实硬度变化的生理生化机制[J].园艺学报,1995,22(1):21-24.
- [12] ARPANA ML, LABARTCHJ M. Effects in the cell wall components of ki-

vifruit during storage in air controlled atmosphere[J]. Ann. Si, 1987, 112(2): 474-487.

- [13] 闫瑞香,王仁才.果实软化衰老的生理生化机制[J].湖南农业大学学报,2000,26(3):230-235.