

钙调素拮抗剂三氟啦嗪对辐照蓝莓果实 硬度品质特性的影响

王琛*, 陶焯, 韩艳秋, 张锐, 李莉峰, 高雅

(辽宁省农业科学院食品与加工研究所, 沈阳 110866)

摘要: **目的** 探讨 γ 辐照结合钙调素拮抗剂三氟啦嗪(trifluoperazine, TFP)对冷藏蓝莓果实硬度品质特性的影响机制。**方法** 采用 2.5 kGy 剂量辐照处理“蓝丰”蓝莓, 结合钙调素拮抗剂 TFP 测定各组蓝莓果实硬度、原果胶、不同溶解性果胶、纤维素和半纤维素含量, 以及相关水解酶活性在冷藏期间的变化差异。**结果** 辐照能够介导 Ca^{2+} 信号转导抑制多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)和果胶甲酯酶(pectin methylesterase, PME)活性, 降低原果胶和螯合剂溶性果胶(chelator-soluble pectin, CSP)降解为水溶性果胶(water-soluble pectin, WSP)的可能性, 进而对冷藏蓝莓果实硬度产生积极影响; TFP 能够在一定程度上阻断胞内 Ca^{2+} 信号的转导作用; 但纤维素酶(cellulase, Cx)、 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase, β -Gal)和 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α -L-arabinofuranosidase, α -Af)对辐照诱导的 Ca^{2+} 信号响应不积极, 辐照后冷藏蓝莓果实连接松散型半纤维素(4% KOH-soluble hemicellulose, 4KSF)、连接紧密型半纤维素(24% KOH-soluble hemicellulose, 24KSF)和纤维素含量的变化与 Ca^{2+} 信号转导无关。**结论** γ 辐照可以介导 Ca^{2+} 信号通过抑制果胶降解对冷藏蓝莓果实硬度品质产生积极影响。

关键词: γ 辐照; “蓝丰”蓝莓; 果实硬度; 三氟啦嗪; Ca^{2+} 信号

Effects of calmodulin-antagonist trifluoperazine on fruit firmness related indexes of irradiated blueberry

WANG Chen*, TAO Ye, HAN Yan-Qiu, ZHANG Rui, LI Li-Feng, GAO Ya

(Institute of Food and Processing, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110866, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effect mechanism of γ irradiation combined with calmodulin-antagonist trifluoperazine (TFP) on the hardness and quality characteristics of refrigerated blueberry fruits. **Method** “Bluecrop” blueberry fruits were treated by γ irradiation at a dose of 2.5 kGy. Combining the treatments with calmodulin-antagonists TFP, fruit firmness, content of protopectin and pectins of different solubilities, cellulose and hemicellulose content, and the changes of related hydrolase activities during cold storage in each group were detected. **Results** γ irradiation could mediate the Ca^{2+} signal transduction to inhibit polygalacturonase (PG) and pectin methylesterase (PME) activities, reduced the probability of degradation of protopectin and chelator-soluble pectin (CSP) into water-soluble pectin (WSP). In this way, γ irradiation could positively influence the firmness of refrigerated blueberry fruit, and TFP could inhibit the

基金项目: 沈阳市中青年科技创新人才支持计划项目(RC200425)

Fund: Supported by the Project of Young and Middle-aged Science and Technology: Innovation Talents of Shenyang (RC200425)

*通信作者: 王琛, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量安全与控制。E-mail: wangchen0913@qq.com

*Corresponding author: WANG Chen, Ph.D, Associate professor, Institute of Food and Processing, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, No 84 Dongling Road, Shenhe District, Shenyang 110866, China. E-mail: wangchen0913@qq.com

signal transduction to a certain degree. However, cellulase (Cx), β -galactosidase (β -Gal), and α -L-arabinofuranosidase (α -Af) responded inactively to the irradiation-induced Ca^{2+} signals, and changes in 4% KOH-soluble hemicellulose (4KSF), 24% KOH-soluble hemicellulose (24KSF), and cellulose content had little influence on Ca^{2+} signal transduction.

Conclusion γ irradiation can mediate Ca^{2+} signal and have a positive impact on the firmness and quality of blueberry fruits during cold storage by inhibiting pectin degradation.

KEY WORDS: γ irradiation; “Bluecrop” blueberry; fruit firmness; triflurazine; Ca^{2+} signal

0 前 言

蓝莓(*Vaccinium* spp.)属于小浆果, 采后极易软化腐烂, 不易于保鲜^[1]。低温虽然能够缓解这一难题, 但是随着贮藏时间的延长, 蓝莓果实的硬度品质又受到了严重挑战^[2]。许多研究证明蓝莓对辐照的耐受性很高, 适当的 γ 辐照可以很好地保持蓝莓果实的硬度, 有利于远距离运输和长期储存^[3-6]。 Ca^{2+} 作为重要的第二信使, 是植物感知非生物胁迫的中心调节因子, 可以左右植物体的代谢方向^[7-8]。WANG 等^[9]研究发现 γ 辐照能够诱导蓝莓果肉细胞产生 Ca^{2+} 荧光信号, 且 2.5 kGy 剂量的辐照效果最好。所以, γ 辐照对冷藏蓝莓果实硬度的积极影响可能与 Ca^{2+} 信号转导有关。

植物细胞内有丰富的 Ca^{2+} 源, 外界环境刺激会诱导胞内 Ca^{2+} 浓度增加, 发挥信号传递和扩大的作用^[10-11]。植物钙调素钙调蛋白(calmodulin, CaM)是植物体内最重要的 Ca^{2+} 信号受体, 可以与胞内多余的 Ca^{2+} 结合形成 Ca^{2+} -CaM 复合体, 调节细胞中各种酶的活性和细胞功能, 发挥信号的转导作用^[12-13]。果实硬度下降是细胞壁多糖在水解酶的作用下发生降解或解聚而引起的细胞壁结构改变所致^[14]。WANG 等^[15]和王琛等^[16]研究发现适当的 γ 辐照能够有效地抑制细胞壁多糖降解, 最大程度地稳定细胞壁结构骨架, 很好地保持冷藏蓝莓的果实硬度^[15-16]。但 γ 辐照如何介导 Ca^{2+} 信号调控了细胞壁降解还需进一步地研究。三氟吡嗪(trifluoperazine, TFP)是常用的一种钙调素拮抗剂, 在有 Ca^{2+} 参与的条件能抑制 CaM 依赖的调节功能, 导致靶酶不能被激活, 在研究 Ca^{2+} 信号介导调控植物细胞代谢活动中发挥了重要的作用^[17-18]。

为了证明辐照是否介导 Ca^{2+} 信号转导延缓了冷藏蓝莓果实软化, 本研究以辐照蓝莓和未辐照蓝莓为研究对象, 结合钙调素拮抗剂 TFP 处理, 研究蓝莓果实硬度、原果胶和不同溶解性果胶、纤维素和半纤维素含量、以及相关水解酶活性在冷藏期间的变化差异, 为揭示 Ca^{2+} 信号转导在辐照抑制冷藏蓝莓果实软化过程中的作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“蓝丰”蓝莓于 2021 年 7 月 15 日采摘于沈阳时圣蓝莓种植基地。挑选大小、色泽、成熟度一致且无病虫害的蓝

莓果实, 分装到带有气孔的聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)保鲜盒(净重: 125 g), 然后统一装入带冰块的泡沫箱, 低温运回实验室备用。

TFP(分析纯, 北京鼎国昌盛生物科技有限公司); 无水乙醇、苯酚、醋酸、反式 1,2-环己烷二胺四烯酸(*trans* 1,2-cyclohexane diamine tetraenoic acid, CDTA)、甲醇、氯仿、磷酸、草酸铵、KOH、 H_2SO_4 、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(trihydroxymethylaminomethane hydrochloride, Tris-HCl)、NaCl、乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)、交联聚乙烯吡咯烷酮(crosslinked polyvinylpyrrolidone, PVPP)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)、NaOH、对基苯酚、醋酸钠、萘酚、咪唑、巯基乙醇、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NaCO_3 、 NaBH_4 、 ZnCl_2 、巯基乙醇、浓硫酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 半乳糖醛酸、多聚半乳糖醛酸钠、柑橘果胶、对硝基苯酚- β -D-吡喃半乳糖苷(*p*-nitrophenyl α -D-galactoside, PNPG)、对硝基酚- α -L-阿拉伯呋喃糖苷(α -L-arabinofuranosidase)、羧甲基纤维素钠、糖苷(色谱纯, 美国 Sigma 公司)。

1.2 仪器与设备

CT3-10K 质构仪(美国 Brookfield 公司); CT14RD 台式高速冷冻离心机(上海天美生化仪器设备工程有限公司); TU-1810 紫外分光光度计(北京善析通用有限公司); HH-6 数显恒温水浴锅(常州国华仪器厂); BSA-224 赛多利斯电子天平(精度: 0.01 mg, 上海精科天平有限公司); QL-901 旋涡振荡器(江苏省海门市麒麟医用仪器厂); PB-10 pH 计(北京赛多利斯仪器系统有限公司)

1.3 样品处理

将蓝莓鲜果分为 4 组, 其中 CK 组为未经任何处理; TFP 组为 TFP 处理; γ 组为辐照处理; γ +TFP 组为辐照和 TFP 结合处理。TFP 处理的浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$, 浸泡时间为 10 min。辐照处理在辽宁钴源辐照中心进行, 辐照源强为 7.51×10^{15} Bq, 辐照剂量为 (2.5 ± 0.011) kGy(剂量均一度: 1.07), 辐照剂量率为 0.581 Gy/s(硫酸亚铁化学剂量计), 辐照时间为 72 min, 期间上下前后同时翻转 1 次。每个处理重复 3 次, 处理后立即于 $(5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ (湿度: 80%)冷藏, 每隔 5 d 取样测定各项指标。

1.4 果实硬度

随机筛选 10 粒蓝莓, 削掉三分之一表面果皮, 采用质构仪测试探头直径为 2 mm, 在果实赤道位置上压入 5.0 mm 深度, 测试前速度为 2.0 mm/s, 测试速度为 1.0 mm/s。每次测试重复 3 次, 记录数据, 取平均值, 单位用 N 表示^[19]。

1.5 原果胶和不同溶解性果胶含量

称取 10 g 蓝莓果肉, 研磨成浆, 加入 20 mL 95%乙醇, 沸水浴 30 min(及时补液), 冷却后离心 15 min, 过滤取沉淀, 再加入 95%乙醇, 沸水浴加热。如此重复 2 次, 收集沉淀物备用。分别用 PAW (苯酚:醋酸:水=2:1:1, V:V:V)、CDTA (0.05 mol/L, pH 6.5)、Na₂CO₃ (0.05 mol/L, 内含 0.02 mol/L NaBH₄, V:V)和 H₂SO₄ (0.5 mol/L)依次提取水溶性果胶(water-soluble pectin, WSP)、螯合剂溶性果胶(chelator-soluble pectin, CSP)、盐溶性果胶(chelator-soluble pectin, NSP)和原果胶^[20]。

胶含量测定采用咔唑比色法, 将 20 mL 果胶样品加入 0.2 mL 1.5 g/L 咔唑-乙醇溶液, 避光放置 30 min, 测定 530 nm 波长下的吸光值^[21]。

1.6 半纤维和纤维素含量

称取 10 g 蓝莓果肉, 用 10 mL 95%的乙醇研磨成浆, 用甲醇-氯仿(1:1, V:V)、0.5 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)和 0.5%草酸铵去除脂肪、可溶性糖和果胶质。所得沉淀用 4% KOH(含 0.1% NaBH₄, V:V)、24% KOH(含 0.1% NaBH₄, V:V)和 72%浓硫酸依次振荡提取 2 h, 获得的沉淀物分别为松散型半纤维素(4% KOH-soluble hemicellulose, 4KSF)、紧密型半纤维素(24% KOH-soluble hemicellulose, 24KSF)和纤维素^[22-23]。半纤维素和纤维素含量的测定采用蒽酮比色法^[21], 取 0.5 mL 蒽酮和 1 mL 水加入到 1 mL 半纤维素和纤维素样品中, 再缓慢加入 10 mL 浓硫酸, 沸水浴 10 min, 冷却后测定 620 nm 波长下的吸光度。

1.7 多聚半乳糖醛酸酶活性

称取 10 g 蓝莓果肉, 用 10 mL 50 mmol/L Tris-HCl 溶液(pH 7, 内含 20 mmol/L NaCl, 10 mmol/L EDTA, 5 g/L PVPP)冰浴提取 4 h, 冷冻离心后取上清液。多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)活性的测定采用比色法, 测定 540 nm 波长下的吸光值, 反应底物为 2 mL 多聚半乳糖醛酸钠, 以每克蓝莓鲜样每 h 催化多聚半乳糖醛酸生成 1 mg 半乳糖醛酸为一个酶活力为单位 U^[24-25]。

1.8 果胶甲酯酶活性

称取 10 g 蓝莓果肉, 用 40 mL 2 mol/L NaCl 溶液(内含 0.5 g PVP 和少量石英)冰浴提取 1 h, 冷冻离心后取上清液。果胶甲酯酶(pectin methylesterase, PME)活性的测定采用 NaOH 滴定法, 反应底物为 1%柑橘果胶, 不断滴入 0.05 mol/L NaOH 保持 pH 7.4, 以每克蓝莓鲜样每 min 消耗 0.05 mmol/L

NaOH 所需要的酶用量为一个酶活力单位 U^[26]。

1.9 纤维素酶活性

称取 10 g 蓝莓果肉, 用 20 mL 0.04 mol/L 醋酸钠缓冲溶液(pH 4.6, 内含 6.8% NaCl 和 1.8 mol/L EDTA)冰浴提取 1 h, 冷冻离心后取上清液。纤维素酶(cellulase, Cx)活性的测定采用比色法, 反应底物为 1.0%羧甲基纤维素钠, 以每克蓝莓鲜样每 h 催化羧甲基纤维素钠生成 1.0 mg 的葡萄糖为一个活力单位 U^[27]。

1.10 β -半乳糖苷酶活性

称取 10 g 蓝莓果肉, 用 20 mL 1.4 mol/L NaCl (pH 6.0, 内含 0.5 g PVP)冰浴提取 1 h, 冷冻离心后取上清液。 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase, β -Gal)活性的测定采用比色法, 测定 400 nm 波长下的吸光值, 反应底物为 1% PNPG, 以每克蓝莓鲜果在 0°C pH 6 条件下, 每 min 生成 1 μ g 对硝基酚为一个活力单位 U^[28]。

1.11 阿拉伯呋喃糖苷酶活性

称取 10 g 蓝莓果肉, 用 40 mL 0.1 mol/L 醋酸钠缓冲溶液(pH 5, 内含 1.4 mol/L NaCl, 1.0 mmol/L ZnCl₂, 5.0 mmol/L 巯基乙醇, 1.5% PVPP)冰浴提取 1 h, 冷冻离心后取上清液, 用 85% (NH₄)₂SO₄ 沉淀, 再溶于醋酸钠缓冲溶液(pH 6)得上清液酶的提取液。 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α -L-arabinofuranosidase, α -Af)活性的测定采用比色法, 测定 400 nm 波长下的吸光值, 反应底物为对硝基酚- α -L-阿拉伯呋喃糖苷, 以每克蓝莓鲜果在 0°C pH 5 条件下, 每 min 生成 1 μ g 对硝基酚为一个活力单位 U^[29]。

1.12 数据处理

每组处理中每个指标均重复测定 3 次, 所有数据用 Microsoft Excel 2013 软件处理, 数据以平均值 \pm 标准偏差表示, 用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA), 只对差异显著 $P < 0.05$ 的结果进行了讨论分析。

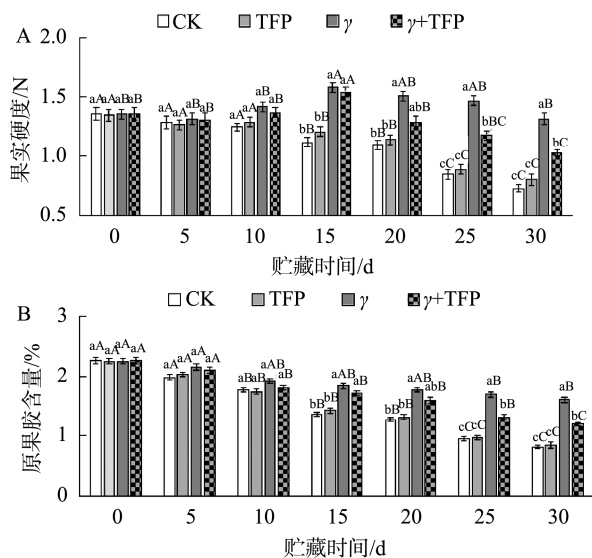
2 结果与分析

2.1 TFP 对果实硬度和原果胶含量的影响

如图 1A 所示, 随着贮藏时间的延长, CK 组蓝莓的果实硬度逐渐下降, 贮藏 30 d 时下降到 0.73 N, 明显低于 γ 辐照组(1.36 N) ($P < 0.05$)。辐照处理后(γ 组), 蓝莓果实硬度呈先上升后下降的趋势, 在贮藏 15 d 时达到峰值, 且与 CK 组差异十分显著($P < 0.05$), 说明 γ 辐照对冷藏后期蓝莓果实硬度有积极影响。结合钙调素拮抗剂处理后, TFP 组蓝莓果实硬度下降幅度与 CK 组始终一致, 在整个贮藏期间保持较低的水平, 而 γ +TFP 组蓝莓的果实硬度在贮藏后期明显低于 γ 组($P < 0.05$), 逐渐与 CK 组接近, 说明钙调素拮

抗剂 TFP 对冷藏后期辐照蓝莓果实硬度产生了影响。

在果实成熟软化过程中, 普遍伴随着原果胶的降解, 可溶性增加。如图 1B 所示, 各组蓝莓果实原果胶含量均呈下降的趋势, 其中 CK 组和 TFP 组下降最快, 而 γ 辐照组和 γ +TFP 组下降相对缓慢。贮藏后期, γ 辐照组原果胶含量最高, γ +TFP 组次之, CK 组和 TFP 组最低。由此可知, 辐照能够抑制冷藏后期蓝莓果实原果胶含量的下降, 而这种抑制效果可被钙调素拮抗剂 TFP 所阻碍, 该结果与冷藏蓝莓果实硬度的变化情况基本一致, 说明辐照对蓝莓果实硬度和原果胶含量的积极影响可能与 Ca^{2+} 信号转导有关。



注: 不同小写字母代表各处理组之间具有显著性差异, 不同大写字母代表每个处理在不同贮藏时间之间具有显著性差异, 下同。

图 1 TFP 对辐照蓝莓果实硬度(A)和原果胶含量(B)的影响

Fig.1 Effects of TFP on fruit firmness (A) and protopetin content (B) in irradiated blueberries

2.2 TFP 对不同溶解性果胶含量的影响

分别测定贮藏 15 和 30 d 蓝莓果实 WSP、CSP 和 NSP 含量, 结果如图 2 所示。伴随着果实硬度和原果胶含量的下降, 各组蓝莓果实的 WSP 含量呈上升趋势, 其中 CK 组上升得较快, 在贮藏 15 和 30 d 时均明显高于 γ 辐照组 ($P<0.05$), 说明辐照能够抑制蓝莓果实 WSP 含量的升高。结合钙调素拮抗剂处理后, TFP 组 WSP 含量变化与 CK 组一致, γ +TFP 组 WSP 含量在贮藏后期明显高于 γ 组 ($P<0.05$)。相反, 蓝莓果实 CSP 含量却呈下降的趋势, 且 CK 组和 γ 辐照组之间的差异十分显著 ($P<0.05$), 说明辐照抑制了 CSP 含量的下降。分别结合钙调素拮抗剂处理后, TFP 组 CSP 含量与 CK 组比变化不大, 而 γ +TFP 组 CSP 含量在贮藏 30 d 时明显低于 γ 辐照组 ($P<0.05$)。这是因为 TFP 阻碍了 CaM 对 Ca^{2+} 信号的转导, 导致辐照抑制 WSP 含量升高和 CSP 含量下降的作用有所下降。与此不同, 辐照蓝

莓果实 NSP 含量在贮藏 30 d 时明显高于 CK 组 ($P<0.05$), 结合钙调素拮抗剂 TFP 处理后, 辐照蓝莓果实 NSP 含量变化却无明显差异, 说明 NSP 含量变化与对辐照诱导的 Ca^{2+} 信号转导无关。

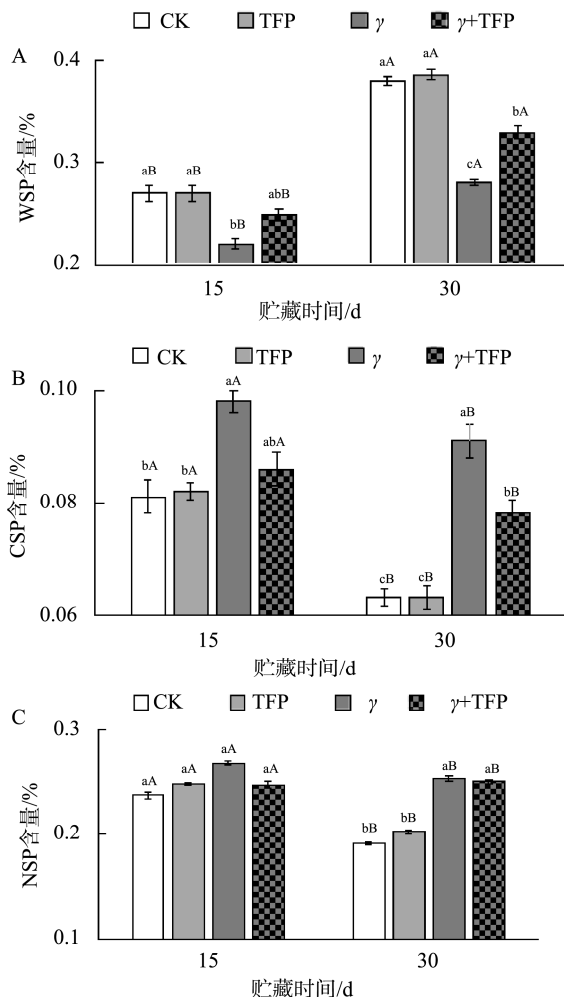


图 2 TFP 对辐照蓝莓果实 WSP (A)、CSP (B)和 NSP (C)含量的影响

Fig.2 Effects of TFP on content of WSP (A), CSP (B) and NSP (C) in irradiated blueberries

2.3 TFP 对纤维素和半纤维素含量的影响

如图 3A、B 所示, 贮藏 15 d 时, 各组蓝莓果实中 4KSF 和 24KSF 的含量差异不显著 ($P>0.05$)。贮藏 30 d 时, CK 组蓝莓果实 4KSF 和 24KSF 含量分别快速地增长和下降, 且与 γ 辐照组差异显著 ($P<0.05$), 说明辐照能够有效抑制冷藏后期蓝莓果实 4KSF 含量的上升和 24KSF 含量的下降。结合钙调素拮抗剂处理后, γ +TFP 组与 γ 组蓝莓果实中 4KSF 和 24KSF 含量差异不显著, 说明辐照对冷藏后期蓝莓果实半纤维素的积极影响与胞内 Ca^{2+} 信号转导无关。

通常蓝莓果实纤维素含量在 4.0%~4.5%之间, 主要集中在果皮中^[30]。如图 3C 所示, 去皮后的纤维素含量相对

很少,保持在 0.5%的水平。随着贮藏时间的延长,各组蓝莓果肉纤维素含量均有所下降,且彼此间的差异并不明显,结合钙调素拮抗剂 TFP 处理后,各组蓝莓纤维素的含量之间的差异也不明显。说明辐照对冷藏蓝莓果实纤维素没有影响,钙调素拮抗剂 TFP 也没有发挥作用。

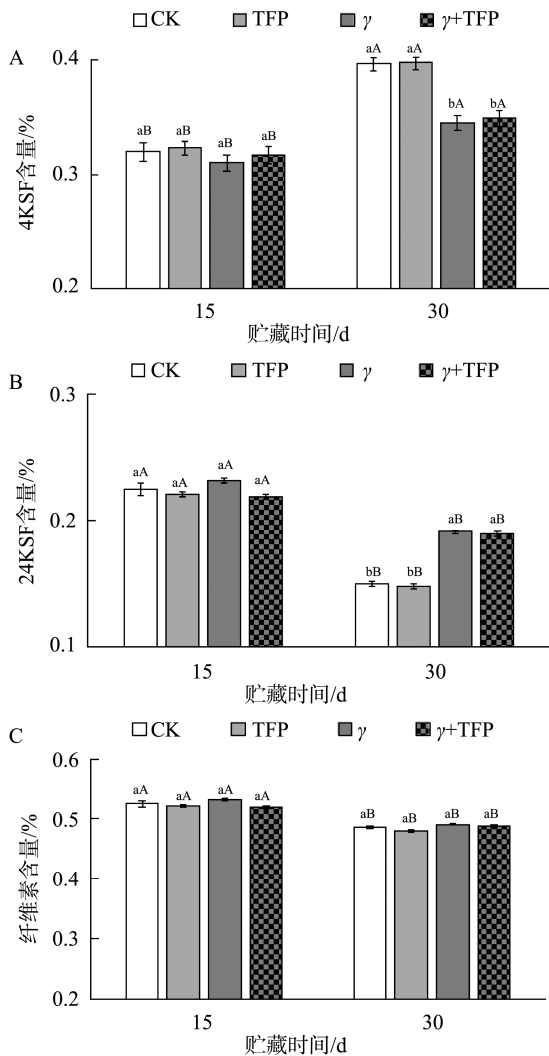


图 3 TFP 对辐照蓝莓果实 4KSF (A)、24KSF (B)和纤维素 (C)含量的影响

Fig.3 Effects of TFP on content of 4KSF (A), 24KSF (B) and cellulose (C) in irradiated blueberries

2.4 TFP 对 PME、PG 和 Cx 活性的影响

如图 4 所示,随着贮藏时间的延长,CK 组和 TFP 组蓝莓果实中 PME、PG 和 Cx 活性迅速升高,并始终处于最高的水平。辐照处理后, γ 辐照组和 γ +TFP 组 PG 和 PME 活性先下降后上升,于贮藏 10 d 时达到谷底,并明显低于 CK 组($P<0.05$)。说明辐照抑制了冷藏蓝莓 PG 和 PME 活性。但是,TFP 组中 PG 和 PME 活性变化与 CK 相比无明显差异,而 γ +TFP 组中却明显高于 γ 辐照组($P<0.05$)。说明

TFP 处理降低了 γ 辐照对 PG 和 PME 的抑制作用。与此不同,辐照处理后 Cx 活性虽然也低于 CK 组,但两者间差异不大,且结合 TFP 处理后,各组间的差异也不显著。所以, γ 辐照对冷藏蓝莓果实 Cx 活性没有影响,但可以介导 Ca^{2+} 信号转导抑制 PG 和 PME 活性,且这种抑制作用的最大效果发生在贮藏 10 d。

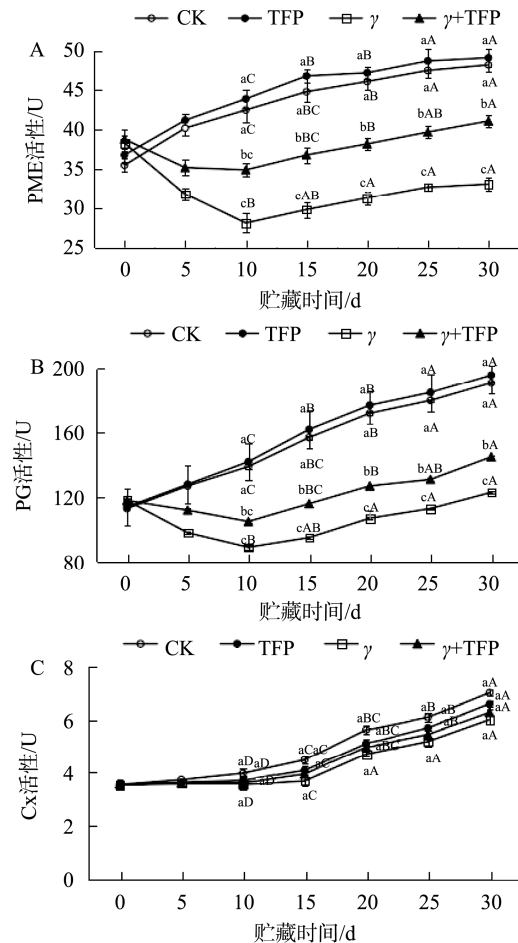


图 4 TFP 对辐照蓝莓果实 PG (A)、PME (B)和 Cx (C)活性的影响
Fig.4 Effects of TFP on activities of PG (A), PME (B) and Cx (C) in irradiated blueberries

2.5 TFP 对 β -Gal 和 α -Af 活性的影响

如图 5 所示,冷藏蓝莓果实的 β -Gal 和 α -Af 活性在整个贮藏期间呈上升的趋势。贮藏前 15 d, 各组 β -Gal 和 α -Af 的活性差异并不明显,但随着贮藏时间的延长,CK 组蓝莓的 β -Gal 和 α -Af 活性快速升高,并明显高于 γ 组($P<0.05$),这说明 γ 辐照能够抑制冷藏后期蓝莓果实 β -Gal 和 α -Af 活性的升高。结合钙调素拮抗剂处理,辐照蓝莓果实的 β -Gal 和 α -Af 活性均略有提升,但与 γ 辐照组相比,彼此之间的差异并不显著($P>0.05$),说明冷藏蓝莓 β -Gal 和 α -Af 活性对 γ 辐照诱导的 Ca^{2+} 信号转导响应不积极, γ 辐照对冷藏后期 β -Gal 和 α -Af 活性的抑制可能是通过其他途径而产生。

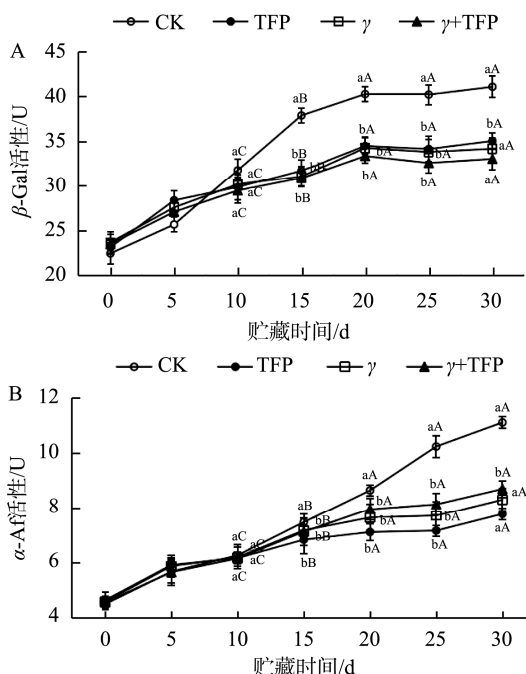


图 5 TFP 对辐照蓝莓果实 β -Gal (A) 和 α -Af (B) 活性的影响
Fig.5 Effects on activities of β -Gal (A) and α -Af (B) by TFP in irradiated blueberries

3 讨论

硬度作为蓝莓果实的重要品质,是决定其消费性、耐贮性和抗病性的主要因素,而植物细胞壁是决定果实硬度的关键因素^[31-32]。植物接受外界刺激后,细胞内 Ca^{2+} 的平衡状态被打破,释放出多余的 Ca^{2+} 通过静电作用与果胶类大分子配体进行螯合,以结合态钙存在,直接参与细胞壁的修饰^[33]。本研究发现辐照对冷藏蓝莓果实硬度有积极影响,并在贮藏 15 d 时出现了峰值,说明辐照促进了冷藏前期细胞内 Ca^{2+} 向细胞壁的迁移,这在作者前期研究中已经被证实^[9]。贮藏 15 d 后辐照蓝莓果实硬度下降缓慢应该与细胞壁的降解有关,这是 CaM 发挥信号转导作用的结果。而钙调素拮抗剂 TFP 能够在一定程度上降低这个作用,这是因为 TFP 与 CaM 竞争 Ca^{2+} , 导致 CaM 的信号转导作用下降,进而证明了辐照是介导胞内 Ca^{2+} 信号转导才对冷藏蓝莓果实硬度产生了积极影响。同样的作用效果出现在辐照对原果胶、CSP 和 WSP 降解的抑制,说明辐照介导 Ca^{2+} 信号降低了果胶增溶或解聚的可能。不同地,辐照虽然对 NSP、4KSF 和 24KSF 有一定的抑制作用,但是 TFP 却未能削弱辐照的这种影响,说明可能还存在其他的途径可以被辐照介导并发挥作用。此外,果实细胞壁的降解与 PE、PG、Cx、 β -Gal 和 α -Af 的水解作用有直接关系^[34]。CaM 与 Ca^{2+} 结合并被活化后,可以调节细胞内多种酶的活性和细胞功能^[35]。纪淑娟等^[36]认为蓝莓果实的软化与 Cx 活性逐渐上升有关。王秀^[37]认为 Cx 是导致蓝莓果实软化的关键酶,对其贮藏后期的软化有促进作用,而 PG 能够加速

贮藏前期和中期的果实软化,对 β -Gal 和 α -Af 起辅助的作用。本研究发现辐照抑制了冷藏蓝莓果实中 PG 和 PME 活性,而且 TFP 降低了辐照对 PG 和 PME 的抑制,说明 PG 和 PME 对辐照介导的 Ca^{2+} 信号响应十分积极。而辐照后的最低酶活的出现比最高果实硬度和果胶含量的出现提前了 5 d,说明辐照介导 Ca^{2+} 通过调控 PG 和 PME 抑制了原果胶和 CSP 降解为 WSP,而对冷藏蓝莓果实硬度产生了积极影响。辐照对 Cx 活性没有影响,所以对纤维素含量的变化也没有影响。与 NSP 的结果类似,辐照抑制了冷藏后期蓝莓果实中 β -Gal 和 α -Af 活性,但是 TFP 对辐照的抑制作用没有影响,说明 β -Gal 和 α -Af 对 Ca^{2+} 信号转导辐照刺激的反应决定了蓝莓果实中 NSP 含量的变化结果。

4 结论

本研究结果表明, γ 辐照能够介导 Ca^{2+} 信号转导抑制 PG 和 PME 活性,降低原果胶和 CSP 降解为 WSP 的可能,进而对冷藏蓝莓果实硬度产生积极影响;钙调素拮抗剂 TFP 能够在一定程度上阻断胞内 Ca^{2+} 信号的转导作用;但是 Cx、 β -Gal 和 α -Af 对辐照诱导的 Ca^{2+} 信号响应不积极,辐照后冷藏蓝莓果实 4KSF、24KSF 和纤维素含量的变化与 Ca^{2+} 信号转导无关。因此, γ 辐照诱发的 Ca^{2+} 信号对果胶参与的冷藏蓝莓果实软化具有重要的调控作用。

参考文献

- ABREU OA, BARRETO G, PRIETO. *Vaccinium* (ericaceae): Ethnobotany and pharmacological potentials [J]. Emir J Food Agric, 2014, 26(7): 577-581.
- 王琛, 李雪涛, 陶焯, 等. ^{60}Co γ 辐照对低温贮藏蓝莓品质和膜脂过氧化作用的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(22): 318-323.
WANG C, LI XT, TAO Y, et al. Effect of ^{60}Co γ -irradiation on storage quality and membrane lipid peroxidation of blueberry fruits during cold storage [J]. Food Sci, 2016, 37(22): 318-323.
- 陈梦玉, 林平, 程转红, 等. ^{60}Co γ 辐照技术在蓝莓贮藏保鲜上的应用[J]. 西南农业学报, 2014, 27(1): 285-291.
CHEN MY, LIN P, CHENG ZH, et al. Application of ^{60}Co γ irradiation on blueberry preservation [J]. Southwest China J Agric Sci, 2014, 27(1): 285-291.
- TONG J, RAKOVSKI C, PRAKASH A. Phytosanitary irradiation preserves the quality of fresh blueberries and grape during storage [J]. Hortscience, 2015, 50(11): 1666-1678.
- 陈曦, 李国林, 陈梦玉, 等. ^{60}Co - γ 动态辐照对“园蓝”蓝莓品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(24): 171-175.
CHEN X, LI GL, CHEN MY, et al. Effect of ^{60}Co - γ dynamic irradiation on quality in “garden blue” blueberry [J]. Food Res Dev, 2016, 37(24): 171-175.
- WANG C, MENG X. Effect of ^{60}Co - γ -irradiation on storage quality and cell wall ultra-structure of blueberry fruit during cold storage [J]. Innov Food Sci Emerg, 2016, 38(12): 91-97.
- HEPLER PK. Calcium: A central regulator of plant growth and development [J]. Plant Cell, 2005, 17(8): 2142-2155.
- LIU H, CHEN F, YANG H, et al. Effect of calcium treatment on nanostructure of chelate-soluble pectin and physicochemical and textural

- properties of apricot fruits [J]. *Food Res Int*, 2009, 42(8): 1131–1140.
- [9] WANG C, TAO Y, HAN Y, *et al.* Influences of subcellular Ca redistribution induced by γ irradiation on the fruit firmness of refrigerated blueberries [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2022, 195(1): 146–152.
- [10] KUDL J, HASHIMOTO OB. Calcium signals: The lead currency of plant information processing [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(3): 541–563.
- [11] DODD AN, KUDLA J, SANDERS D. The language of calcium signaling [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 2010, 61: 593–620.
- [12] GALON Y, FINKLER A, FROMM H. Calcium-regulated transcription in plants [J]. *Molecular Plant*, 2010, 3(4): 653–669.
- [13] 郑远, 陈兆进. 植物细胞器钙信号研究进展[J]. *植物生理学报*, 2015, 51(8): 1195–1203.
ZHENG Y, CHEN ZJ. Organellar calcium signaling in plants [J]. *Plant Physiol J*, 2015, 51(8): 1195–1203.
- [14] VILLARREAL NM, ROSLI HG, MARTINEZ GA, *et al.* Polygalacturonase activity and expression of related genes during ripening of strawberry cultivars with contrasting fruit firmness [J]. *Posth Biol Technol*, 2008, 47: 141–150.
- [15] WANG C, GAO Y, TAO Y, *et al.* Gama-irradiation treatment decreased degradation of cell-wall polysaccharides in blueberry fruit during cold storage [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2017, 131(5): 31–38.
- [16] 王琛, 高雅, 陶焯, 等. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 辐照对冷藏蓝莓果实软化相关指标的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(22): 8540–8546.
WANG C, GAO Y, TAO Y, *et al.* Effect of $^{60}\text{Co-}\gamma$ irradiation on softening indices of blueberry fruit during cold storage [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(22): 8540–8546.
- [17] 林素英, 梁杰, 黄志明, 等. 钙调素拮抗剂 TFP 对低温胁迫下枇杷幼果 AsA-GSH 循环的影响[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(11): 1984.
LIN SY, LIANG J, HUANG ZM, *et al.* Effects of calmodulin antagonist TFP on AsA-GSH cycle in young loquat fruits under low temperature stress [J]. *Chin J Trop Crop*, 2012, 33(11): 1984.
- [18] 凌晨, 谢兵, 洪羽婕, 等. 外源钙和钙调素拮抗剂对冷藏桃果实耐冷性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(1): 240–248.
LING C, XIE B, HONG YJ, *et al.* Effects of exogenous calcium and calmodulin antagonist treatments on chilling tolerance of cold-stored peach fruit [J]. *Food Sci*, 2019, 40(1): 240–248.
- [19] ZHOU Q, MA C, CHENG S, *et al.* Changes in antioxidative metabolism accompanying pitting development in stored blueberry fruit [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2014, 88: 88–95.
- [20] MA C, FENG L, PAN L, *et al.* Relationships between optical properties of peach flesh with firmness and tissue structure during storage [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2020, 163: 111–134.
- [21] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
CAO JK, JIANG WB, ZHAO YM. Experiment guidance of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.
- [22] PHOTHISET S, CHAROENREIN S. Effects of freezing and thawing on texture, microstructure and cell wall composition changes in papaya tissues [J]. *J Sci Food Agric*, 2014, 30(1): 189–196.
- [23] HOLLAND N, NUNES FLDS, MEDEIROS IUDD, *et al.* High-temperature conditioning induces chilling tolerance in mandarin fruit: A cell wall approach [J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 92(15): 3039–3045.
- [24] LIU C, CHEN C, ZHANG Y, *et al.* Aqueous ozone treatment inhibited degradation of cellwall polysaccharides in fresh-cut apple during cold storage [J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2021, 67(2): 102–108
- [25] MORGUTTI S, NEGRINI N, NOCITO FF, *et al.* Changes in endopolygalacturonase levels and characterization of a putative endo-pg gene during fruit softening in peach genotypes with nonmelting and melting flesh fruit phenotypes [J]. *New Phytol*, 2006, 171(2): 315–328.
- [26] SEGONNE SM, BRUNEAN M, CELTON JM, *et al.* Multiscale investigation of mealiness in apple: An atypical role for a pectin methylesterase during fruit maturation [J]. *BMC Plant Biol*, 2014, 31(12): 375–393.
- [27] DONG T, XIA R, WANG M, *et al.* Changes in dietary fibre, polygalacturonase, cellulase of navel orange (*Citrus sinensis* (L.) osbeck 'cara cara') fruits under different storage conditions [J]. *Sci Horti- Amsterdam*, 2008, 116(4): 414–420.
- [28] ALI ZM, OTHMAN R, LEE YG, *et al.* Isolation, characterization and significance of papaya β -galactanases to cell wall modification and fruit softening during ripening [J]. *Physiol Plantarum*, 2010, 104(1): 105–115.
- [29] GOULAO LF, SANTOS J, SOUSA ID, *et al.* Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2007, 43(3): 307–318.
- [30] 杨桂霞, 许晓娟, 程志强, 等. 响应面法优化蓝莓果渣可溶性膳食纤维提取工艺[J]. *吉林农业大学学报*, 2015, 37(6): 739–745.
YANG GX, XU XJ, CHENG ZQ, *et al.* Optimization of extraction technology of soluble dietary fiber from blueberry pomace by response surface method [J]. *J Jilin Agric Univ*, 2015, 37(6): 739–745.
- [31] LI C, LUO J. A novel instrument to delineate varietal and harvest effects on blueberry fruit texture during storage [J]. *J Sci Food Agric*, 2011, 91(9): 1653–1658.
- [32] 阙娟, 谢海艳, 金昌海. 桃果实成熟软化过程中生理特性及细胞壁超微结构的变化[J]. *江苏农业学报*, 2012, 28(5): 1125–1129.
KAN J, XIE HY, JIN CH. Physiological characteristics and cell wall ultrastructure during ripening and softening of peach fruit [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 2012, 28(5): 1125–1129.
- [33] 张哲, 宋水山, 边子睿, 等. 植物细胞中钙离子作用的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(24): 14525–14527.
ZHANG Z, SONG SS, BIAN ZR, *et al.* Research advances in role of calcium in plant cell [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2011, 39(24): 14525–14527.
- [34] LIANG J, ZHU D, ZHAO L, *et al.* Effect of changes in cell wall enzyme activity on degradation of pectin during low-temperature storage of plum [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2015, 31(5): 212–218.
- [35] MANZOOR H, CHILTZ A, MADANI S, *et al.* Calcium signatures and signaling in cytosol and organelles of tobacco cells induced by plant defense elicitors [J]. *Cell Calcium*, 2012, 51(6): 434–444.
- [36] 纪淑娟, 卜凤雅, 周倩, 等. 冷藏对蓝莓果实细胞壁组分及其降解酶活性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(6): 199–204.
JI SJ, BU FY, ZHOU Q, *et al.* Effects of refrigeration on cell wall components and cell wall-degrading enzyme activities of blueberries [J]. *Food Ferment Ind*, 2014, 40(6): 199–204.
- [37] 王秀. 蓝莓果实采后软化与细胞壁代谢关系研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
WANG X. Study on the relationship between postharvest softening and cell wall metabolism of blueberry fruit [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.

(责任编辑: 黄周梅 于梦娇)

作者简介



王琛, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全与控制。
E-mail: wangchen0913@qq.com