

微环境气调对蓝莓贮藏期软化的调控作用

张 鹏^{1,2}, 朱文月³, 薛友林³, 贾晓昱^{1,2}, 李江阔^{1,2*}

¹天津市农业科学院农产品保鲜与加工技术研究所 天津 300384

²国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津) 农业农村部农产品贮藏保鲜重点实验室
天津市农产品采后生理与贮藏保鲜重点实验室 天津 300384

³辽宁大学轻型产业学院 沈阳 110036)

摘要 为探讨微环境气调对蓝莓贮藏期果实软化的影响,采用自发气调(mMAP)、1-甲基环丙烯(1-MCP)、微环境气调(mMAP+1-MCP)处理蓝莓,以未经处理的蓝莓为对照。将处理过的蓝莓置冰温库(-0.5±0.3)℃贮藏,分别于贮藏0,20,40 d和60 d时测定果实硬度、细胞壁多糖含量、细胞壁降解酶活性和关键降解酶基因表达量。结果表明:与对照组相比,3个处理组均能显著降低果实的软果率($P < 0.05$),其中mMAP+1-MCP处理效果最佳。贮藏60 d时果实硬度显著高于其它处理组($P < 0.05$),维持较高的纤维素和原果胶含量,半纤维素在贮藏前期高于其它处理,而可溶性果胶含量在贮藏中前期保持较低水平。分析细胞壁降解酶,mMAP+1-MCP处理组贮藏40 d时纤维素酶(Cx)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)和果胶甲酯酶(PME)活性最低,贮藏60 d时 β -半乳糖苷酶(β -Gal)和 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α -Af)活性显著低于其它处理组($P < 0.05$)。正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)表明,mMAP+1-MCP与其它处理组差异性指标为Cx和 β -Gal活性。对这两种细胞壁降解酶基因的表达分析结果:mMAP+1-MCP处理可有效延缓蓝莓贮藏过程中Cx和 β -Gal基因表达量峰值的出现时间。结论:mMAP+1-MCP形成的微环境气调环境通过延缓Cx和 β -Gal基因表达量出峰时间,抑制贮藏后期Cx和 β -Gal活性,保持果实的纤维素和原果胶含量,进而减缓果实的软化。

关键词 蓝莓;微环境气调;贮藏;软化

文章编号 1009-7848(2022)05-0249-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.05.027

蓝莓是一种属于杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* spp.)的小型浆果,初产于北美^[1],深受消费者青睐^[2]。蓝莓富含多种营养物质,具有很高的食用和商品价值^[3-5]。同时,蓝莓具有多种保健功效^[3],是五大健康食品之一,被称为“浆果之王”。蓝莓果实采后不耐贮藏,品质极易发生劣变,室温下易失水皱缩且不加任何处理的蓝莓采后仅能保存3~7 d^[6-7]。蓝莓多采摘于高温、多雨的夏季,果实水分含量高,炎热的气候使得蓝莓采摘后呼吸作用旺盛,代谢加快,导致蓝莓保鲜和贮藏性差^[8-9],果实软化现象严重,对蓝莓产业造成很大的经济损失。

微环境气调是基于箱式气调而发展起来的一种新兴气调方式。其特点是在传统箱式气调对O₂和CO₂自发调节的基础上,加入新型气体,从而实现双控调节^[10-12]。如刘振通^[13]研究表明,微环境气调调控可有效延缓软枣猕猴桃和柿等果实质地的下降,并保持良好的营养价值,延长了果蔬的贮藏期和货架期;Falagún等^[14]对蓝莓研究发现,气调贮藏可有效降低腐烂率,维持较高的果实硬度和糖含量,在贮藏结束时,其果实抗坏血酸含量接近贮藏初始值。Park等^[15]研究表明气调处理在冷藏过程中延缓了番茄果实的成熟和果皮红色的形成,有效降低点蚀评分和腐烂率,减少冻害,延长番茄的货架期。早在2012年,Cantín等^[16]就证明气调有利于维持蓝莓品质,而目前尚未有研究从细胞壁降解酶角度分析对蓝莓软化的调控作用。本文采用微环境气调结合冰温技术,以蓝莓为试验对象,从果实硬度、细胞壁多糖含量、细胞壁降解酶活性及关键酶基因表达量入手,研究微环境气调对蓝莓贮藏期果实软化的影响,为改善蓝莓贮藏保鲜技术,实现无缝化全程冷链的保鲜新模式提供试

收稿日期: 2021-05-28

基金项目: 兵团重点领域科技攻关项目(2019AB024);国家重点研发计划项目(2018YFD0401303);天津市农业科学院青年科研人员创新研究与实验项目(2019009);辽宁省“兴辽英才计划”项目(XLYC1807270)

作者简介: 张鹏(1981—),女,博士后,副研究员

通信作者: 李江阔 E-mail:lijkuo@sina.com

验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“莱克西”蓝莓于2019年6月采自浙江宁波森田蓝莓农庄;1-甲基环丙烯,国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津);浓硫酸、乙醇、丙酮、果胶、3,5-二硝基水杨酸、羧甲基纤维素、半乳糖醛酸标准品、葡萄糖标准品,天津市江天化工有限公司;植物纤维素(Cellulose)检测试剂盒、植物半纤维素(Hemicellulose)检测试剂盒、植物原果胶含量检测试剂盒、可溶性果胶(WSP)含量检测试剂盒、植物 α -L-阿拉伯呋喃糖酶(α -Af)检测试剂盒、植物果胶甲酯酶(PME)检测试剂盒、植物 β -半乳糖苷酶(β -Gal)检测试剂盒,上海邦奕生物科技有限公司;反转录试剂盒,北京艾德莱生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

冰温库,国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津);气调箱(配气调元件)(长0.28 m×宽0.22 m×高0.12 m),宁波国嘉农产品保鲜包装技术有限公司;TA.XT.Plus物性仪,英国Stable Micro Systems公司;Infinite F50酶标仪,瑞士TECAN(帝肯)公司;Sorvall ST 40赛默飞离心机,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;DHG-9240培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;Analytikjena-qTOWER2.2型荧光定量PCR仪、Easycycler普通PCR仪、scandrop100超微量核酸蛋白测定仪,德国耶拿仪器分析股份公司;D3024R离心机,美国赛克捷公司;移液器,伯乐生命医学产品(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理 将大小均匀、品质良好的果实装入气调箱相配套的小篮内,每箱蓝莓2.4 kg,在采收2 h内放入冷库预冷,并进行如下处理:1)mMAP组:扣盖并黏贴气调元件;2)1-MCP组:放入1-MCP药品(理论体积分数为0.0001%),扣盖并黏贴封闭气调元件,处理24 h后,打开封闭气调元件;3)mMAP+1-MCP组:放入1-MCP药品(理论体积分数为0.0001%),扣盖并黏贴气调元件;4)CK组:不黏贴气调元件。通过冷链物流车

(宁波至天津,0~4℃,4 d)运至实验室并放入冰温库阶段预冷【(4.0±0.5)℃条件下预冷6~10 h,(-1.4±0.2)℃温度下驯化6~8 h】后于(-0.5±0.3)℃下贮藏,每20 d测定一次,周期为60 d(注:在贮藏过程中,mMAP和mMAP+1-MCP处理的氧气含量变化范围分别为11.27%~16.10%和10%~15.13%,二氧化碳变化范围分别为5.30%~10.87%和6.13%~11.10%)。

1.3.2 软果率 每个处理随机选取400 g左右的蓝莓果实,将软果挑出进行称重。软果率(X)计算公式如下:

$$X(\%) = \frac{M_0}{M} \times 100$$

式中, X ——软果率,%; M_0 ——调查时软果质量,g; M ——调查时总果质量,g。

1.3.3 硬度 采用TA.XT.Plus质构仪测定^[17]。将蓝莓果实置于测定平台上,果蒂朝上,用型号为P/75的圆柱形探头(直径为75 mm)进行测试。测试参数为:测前、测试和测后上行速度分别为2,1 mm/s和2 mm/s,果肉受压变形30%,两次压缩间隔5 s,触发力5 g。各处理重复10次,取平均值。

1.3.4 细胞壁物质 纤维素和半纤维素的提取及测定采用酶联免疫吸附剂法,根据试剂盒说明书进行操作;原果胶和可溶性果胶含量测定采用分光光度法,根据试剂盒说明书进行操作。

1.3.5 细胞壁降解酶活性测定

1.3.5.1 纤维素酶(Cx) 采用3,5-二硝基水杨酸法测定^[18],根据葡萄糖标准曲线计算生成葡萄糖量,以37℃时每克果肉每小时催化生成葡萄糖的微克数来计算酶活性,单位为 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 。

1.3.5.2 多聚半乳糖醛酸酶(PG) 采用3,5-二硝基水杨酸法测定^[19],根据半乳糖醛酸标准曲线计算生成半乳糖醛酸量,以37℃时每克果肉每小时催化生成半乳糖醛酸的毫克数来计算酶活性,单位为 $\text{mg}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 。

1.3.5.3 果胶甲酯酶(PME)、 α -L-阿拉伯呋喃糖酶(α -Af)、 β -半乳糖苷酶 均采用试剂盒进行测定,酶活单位为U/g。以上酶均做重复测定3次,取平均值。

1.3.6 关键细胞壁降解酶基因表达测定

1.3.6.1 RNA的提取和反转录 使用Trizol法对

蓝莓总 RNA 进行提取,经琼脂糖凝胶法和紫外分光光度计检测被提取总 RNA 完整性和含量。cDNA 由反转录试剂盒法制备,反转录条件为:42 ℃, 40 min;65 ℃,10 min。反应结束后,得到 cDNA,于-80 ℃保存。

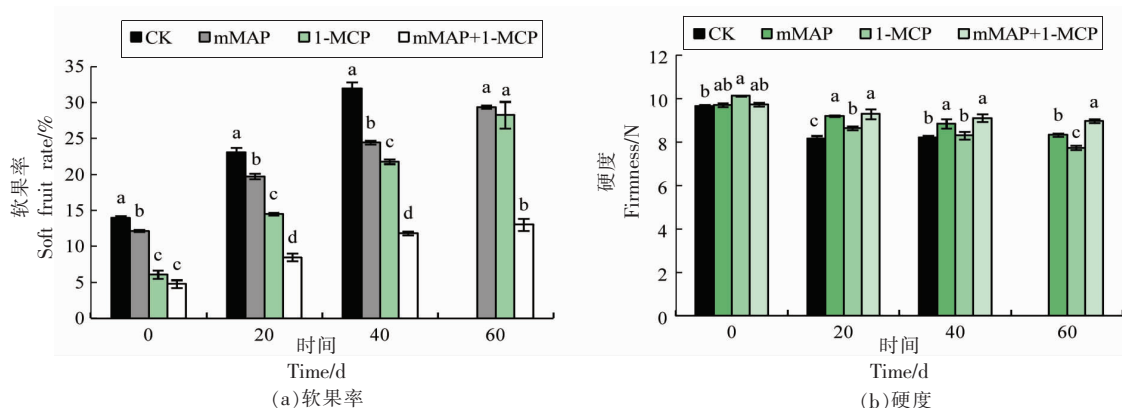
1.3.6.2 引物合成信息及荧光定量 PCR 检测 通过荧光定量 PCR 测定 *Cx* 和 β -*Gal* 基因表达。在 GenBank 数据库中进行检索,根据已经报道的同源植物的基因保守序列,由杭州联川生物技术股份有限公司对引物进行设计,引物信息如表 1 所示。荧光定量 PCR 反应程序为 95 ℃预变性 3 min,95 ℃变性 10 s,58 ℃恒温扩增 30 s,一共 40 次循环,融解曲线(60 ℃~95 ℃,+1 ℃/循环,维持时间 4 s)。以 18s 为内参,利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算各个样品的基因相对表达量。

1.3.7 数据分析 采用 Excel 2010 软件进行数据统计处理;采用 SPSS 23.0 软件 Duncan 氏新复极差法进行数据差异显著性分析;并采用 SIMCA 14.1 进行正交偏最小二乘法判别分析 (OPLA-DA)分析。

2 结果与分析

2.1 微环境气调对蓝莓果实软果率及硬度的影响

由图 1a 所示,在贮藏过程中,各组处理蓝莓果实的软果率均呈现不同幅度上升趋势,其中 CK 组上升速率最大,而 mMAP+1-MCP 处理组最小。



注:不同小写字母表示每个指标的相同时间不同处理组间差异显著($P < 0.05$),下同。

图 1 微环境气调对蓝莓贮藏期软果率(a)和硬度(b)的影响

Fig.1 The effects of micro-environmental modified atmosphere on soft fruit rate (a) and firmness (b) of blueberries during storage

表 1 引物信息

Table 1 Primer information		
基因序号	引物名称	序列(5' to 3')
1	18S-F	CAACCATAAACGATGCCGA
	18S-R	AGCCTTGGCACCATACTCC
2	Cx-1-F	CGCCTGGGAATACCGGGA
	Cx-1-R	GTGCAGGGTCCGAGGTCC
3	β -Gal-1-F	CATCAAGCTGCTGCAGCA
	β -Gal-1-R	GGTGGTTCATTCATCAAT

贮藏 20~40 d 时,3 个处理组的软果率均显著低于对照组($P < 0.05$),且 3 个处理之间差异显著($P < 0.05$)。由于贮藏 40 d 时,对照组蓝莓软果率达 30%以上,因此试验停止,没有进行贮藏 60 d 测定;贮藏 60 d 时,mMAP、1-MCP 和 mMAP+1-MCP 处理组的软果率分别为 29.37%、28.25% 和 13.02%,且 mMAP+1-MCP 处理组的软果率显著低于另外 2 个处理组($P < 0.05$),表明 mMAP+1-MCP 处理可以有效延缓果实的软化。

硬度可以体现出在贮藏过程中果实的品质变化情况^[20]。如图 1b 所示,随着贮藏时间的延长,由于果实衰老、营养物质消耗及果实软化等因素使果实硬度呈降低趋势。贮藏 40 d 时,各处理组的硬度排序如下:mMAP+1-MCP > mMAP > 1-MCP > CK,mMAP 和 mMAP+1-MCP 处理组的硬度分别是 CK 组的 1.08 和 1.11 倍,两个处理差异不明显($P > 0.05$)。贮藏 60 d 时,mMAP 和 mMAP+1-MCP 处理组的硬度为 8.34 N 和 8.97 N,分别为

CK组40 d时硬度的1.02和1.09倍,表明mMAP处理在贮藏后期可以较好地维持果实硬度,mMAP结合1-MCP处理效果更佳。

2.2 微环境气调对蓝莓果实细胞壁多糖含量的影响

由图2a可得,随着贮藏时间的延长,贮藏期的蓝莓果实中纤维素含量呈降低趋势。在贮藏0 d时,不同处理组之间的纤维素含量差异显著($P < 0.05$),且由高到低依次为:mMAP > mMAP+1-MCP > 1-MCP > CK,说明mMAP和1-MCP处理均会对蓝莓果实中纤维素含量产生直接的作用,mMAP处理的纤维素含量更高。在贮藏前40 d纤维素含量下降幅度大,40 d后变化幅度较小。贮藏40 d时,CK、mMAP、1-MCP和mMAP+1-MCP处理组纤维素含量分别为1 465.62,1 514.17,2 095.45和2 088.77 $\mu\text{g}/\text{g}$,且mMAP、1-MCP和mMAP+1-

MCP处理分别是CK处理的1.03、1.43和1.43倍;贮藏60 d时,mMAP+1-MCP处理组纤维素含量为2 372.47 $\mu\text{g}/\text{g}$,显著($P < 0.05$)高于另外两个处理。

前人对蓝莓果实细胞壁在发育过程中解体的研究表明,半纤维素的溶解和解聚是蓝莓果实细胞壁发生的主要变化之一^[21]。由图2b可得,随着贮藏时间的延长,各处理的半纤维素含量虽整体呈下降趋势,但变化较小。1-MCP和mMAP+1-MCP在0~40 d呈小幅上升趋势,之后快速下降;贮藏40 d时,1-MCP和mMAP+1-MCP的半纤维素含量分别为809.93 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和795.38 $\mu\text{g}/\text{g}$,均显著高于另外两组处理($P < 0.05$),为1.68~1.86倍,1-MCP和mMAP+1-MCP处理维持了贮藏后期蓝莓果实的半纤维素含量。

由图2c可得,在贮藏过程中,mMAP、1-MCP

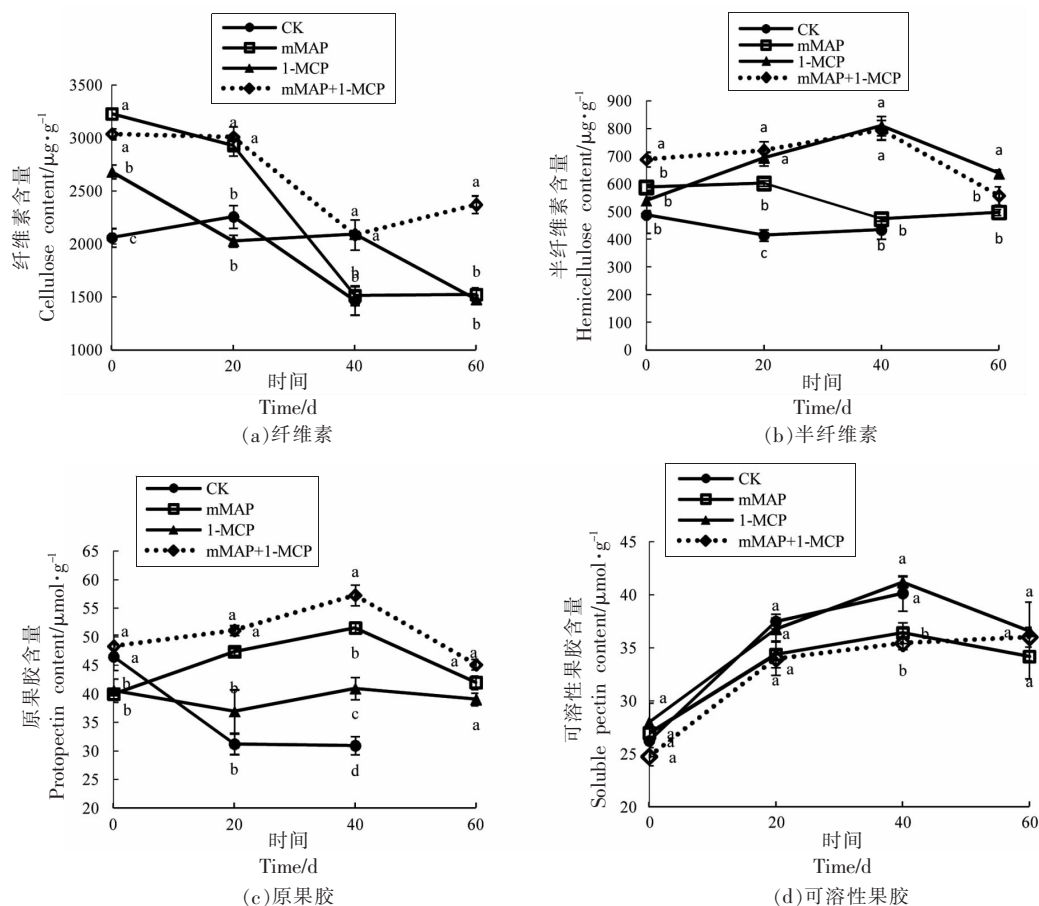


图2 微环境气调对蓝莓贮藏期细胞壁多糖含量的影响

Fig.2 The effects of micro-environmental modified atmosphere on the contents of cell wall polysaccharides of blueberries during storage

和 mMAP+1-MCP 处理组蓝莓果实原果胶含量整体呈先升后降的趋势,贮藏 40 d 出现降低的趋势且在贮藏前、后含量变化不大,而 CK 组蓝莓果实原果胶含量在 0~20 d 快速下降,之后趋于平稳。在贮藏过程中,3 个处理组较 CK 组始终维持一个更高的原果胶含量,可延缓果实变软,且 mMAP+1-MCP 处理组原果胶含量始终最高。

Vicente 等^[21]的研究结果表明,在成熟过程中果胶的增溶作用增强。由图 2d 可得,4 个处理组的可溶性果胶含量均随贮藏期的延长整体呈增加趋势,且在 0~20 d 快速上升,其中 CK 组的变化最大;20 d 后含量变化相对缓慢,mMAP+1-MCP 和 mMAP 处理组始终维持较低的可溶性果胶含量。

2.3 微环境气调对蓝莓果实细胞壁降解酶活性的影响

在未成熟的果实中,纤维素酶(Cx)活性很低,随着果实的成熟,编码其蛋白的 mRNA 表达量增加^[22]。如表 2 所示,在贮藏 0 d 时,mMAP+1-MCP 处理的 Cx 活性显著低于其它处理组 ($P < 0.05$),说明 mMAP+1-MCP 处理可直接影响到贮藏初期 Cx 活性。在贮藏过程中,Cx 活性整体呈上升趋势,贮藏 20~40 d,CK 组酶活性大幅上升并达到最大值 36.96 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$,mMAP 和 1-MCP 处理的 Cx 活性在贮藏 40 d 达到最大值,分别为 33.72 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 和 35.07 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$,而 mMAP+1-MCP 处理组在 60 d 时达到活性高峰,为 33.19 $\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 。3 种处理在贮藏中后期均可降低 Cx 活性峰值,且 mMAP 结合 1-MCP 可延缓酶活性高峰的到来并降低其峰值。

贮藏 0 d 时,mMAP 和 mMAP+1-MCP 处理组多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性均高于另外两个处理组,说明 mMAP 处理可直接刺激 PG 活性,使之处于较高水平,而 mMAP 结合 1-MCP 效果更显著 ($P < 0.05$)。随着贮藏时间的延长,CK 组 PG 活性上升幅度大,1-MCP 处理在 0~20 d 快速上升,之后趋于平缓;mMAP 和 mMAP+1-MCP 处理在 0~40 d 酶活性变化不大,40 d 之后开始有小幅度的上升。3 个处理组在贮藏中后期均可降低 PG 活性,mMAP+1-MCP 处理效果更佳。

贮藏 0~20 d,CK 组的果胶甲酯酶(PME)活性有较高幅度的上升,并在贮藏 20 d 达到活性高峰

为 13.18 U/g,之后稍有下降,其它 3 个处理的 PG 活性则在贮藏 20 d 之后出现不同程度的上升,mMAP 处理组在贮藏 40 d 达到酶活高峰,为 12.84 U/g,而 1-MCP 和 mMAP+1-MCP 处理则在贮藏 60 d 达到活性高峰,分别为 12.78 U/g 和 12.65 U/g;在贮藏中后期(40~60 d),各处理之间的 PG 活性差异不显著 ($P > 0.05$)。

贮藏 0~20 d,各处理 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α -Af)活性均不同程度上升,mMAP+1-MCP 在贮藏 20 d 即达到酶活高峰为 15.05 U/g,之后 mMAP+1-MCP 处理组 α -Af 活性缓慢下降。mMAP 和 1-MCP 处理组 α -Af 活性缓慢升高并在贮藏 60 d 达到最高值,分别为 15.80 U/g 和 15.31 U/g。CK 组 α -Af 活性在贮藏 40 d 达酶活高峰为 15.14 U/g,表明 mMAP 和 1-MCP 处理可以延缓 α -Af 活性峰值到来的时间;贮藏中后期(40~60 d),mMAP+1-MCP 处理果实 α -Af 活性均低于其它处理组,贮藏 60 d 时差异显著 ($P < 0.05$)。

各处理组的 β -半乳糖醛酸糖苷酶(β -Gal)活性随贮藏时间的延长均有一个上升阶段,其中 CK 组在贮藏 20 d 时达到酶活性高峰(22.67 U/g),mMAP 和 1-MCP 在 60 d 才达到活性峰值,分别为 21.27 U/g 和 21.07 U/g,而 mMAP+1-MCP 处理组在贮藏 40 d 达到 β -Gal 活性高峰为 19.63 U/g,仅为 20 d 时 CK 组的 86.59%。贮藏 0~20 d,mMAP 和 1-MCP 处理均能有效抑制 β -Gal 活性,到贮藏 60 d 贮藏结束时,mMAP+1-MCP 处理仍可维持较低的酶活性,显著低于其它处理组,其活性仅为其它 2 个处理组的 83.07% 和 83.86%。

根据表 2 结果将果实硬度最佳的 mMAP+1-MCP 处理作为组 1,将其它 3 个处理作为组 2,对两个组的细胞壁多糖含量进行正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA),探究 mMAP+1-MCP 处理与其它 3 个处理间的差异性指标。由图 3a 可得,mMAP+1-MCP 处理与另外 3 个处理组之间区分较好,mMAP+1-MCP 处理位于左边,其它 3 个处理多数位于右边。以 $\text{VIP} > 1$ 为筛选标准,由图 3b 可得,贮藏期的 mMAP+1-MCP 和其它 3 个处理之间的差异性指标为 Cx 和 β -Gal,说明 mMAP+1-MCP 处理可以更有效地抑制 Cx 和 β -Gal 活性。

表2 微环境气调对蓝莓贮藏期细胞壁降解酶活性的影响

Table 2 The effects of micro-environmental modified atmosphere on activities of cell wall degrading enzymes of blueberries during storage

贮藏时间/d	指标	纤维素酶/ $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$	多聚半乳糖醛酸酶/ $\text{mg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$	果胶甲酯酶/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$	α -L-阿拉伯呔糖苷酶/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$	β -半乳糖醛酸糖苷酶/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$
0	CK	$31.87 \pm 1.95^{\text{aB}}$	$21.37 \pm 0.22^{\text{bc}}$	$11.47 \pm 0.27^{\text{ab}}$	$12.11 \pm 0.74^{\text{bc}}$	$19.21 \pm 2.31^{\text{aB}}$
	mMAP	$32.04 \pm 0.36^{\text{aB}}$	$22.32 \pm 0.57^{\text{bc}}$	$11.87 \pm 0.69^{\text{ac}}$	$13.28 \pm 1.20^{\text{ab}}$	$17.11 \pm 1.20^{\text{ab}}$
	1-MCP	$32.20 \pm 1.56^{\text{ac}}$	$21.42 \pm 0.23^{\text{bc}}$	$11.70 \pm 0.43^{\text{ab}}$	$12.77 \pm 0.99^{\text{bc}}$	$16.13 \pm 1.85^{\text{bc}}$
	mMAP+1-MCP	$27.28 \pm 1.76^{\text{bB}}$	$23.44 \pm 0.53^{\text{ab}}$	$12.03 \pm 0.06^{\text{aA}}$	$13.52 \pm 0.34^{\text{ab}}$	$17.43 \pm 1.06^{\text{ab}}$
20	CK	$30.11 \pm 0.23^{\text{ab}}$	$24.31 \pm 0.22^{\text{bB}}$	$13.18 \pm 0.56^{\text{aA}}$	$14.43 \pm 0.85^{\text{bB}}$	$22.67 \pm 2.27^{\text{aA}}$
	mMAP	$30.99 \pm 1.88^{\text{bc}}$	$23.49 \pm 0.49^{\text{ab}}$	$11.43 \pm 0.79^{\text{bc}}$	$14.13 \pm 0.69^{\text{bB}}$	$20.71 \pm 1.35^{\text{ab}}$
	1-MCP	$32.44 \pm 0.33^{\text{ab}}$	$25.32 \pm 0.25^{\text{bc}}$	$11.96 \pm 0.68^{\text{ac}}$	$15.01 \pm 0.50^{\text{bB}}$	$19.50 \pm 1.20^{\text{bB}}$
	mMAP+1-MCP	$31.56 \pm 0.82^{\text{ab}}$	$23.68 \pm 1.18^{\text{bc}}$	$11.11 \pm 0.70^{\text{bc}}$	$15.05 \pm 0.31^{\text{aA}}$	$16.46 \pm 1.20^{\text{cC}}$
40	CK	$36.96 \pm 1.06^{\text{aA}}$	$26.99 \pm 0.54^{\text{aA}}$	$12.74 \pm 0.42^{\text{aA}}$	$15.14 \pm 0.31^{\text{ab}}$	$18.16 \pm 2.68^{\text{bc}}$
	mMAP	$33.72 \pm 0.74^{\text{cA}}$	$23.38 \pm 0.79^{\text{bB}}$	$12.84 \pm 0.86^{\text{aA}}$	$15.67 \pm 0.43^{\text{aA}}$	$20.12 \pm 1.39^{\text{ab}}$
	1-MCP	$35.07 \pm 0.28^{\text{bA}}$	$25.59 \pm 0.69^{\text{bA}}$	$12.54 \pm 1.04^{\text{ab}}$	$15.05 \pm 0.81^{\text{ab}}$	$19.73 \pm 1.01^{\text{ab}}$
	mMAP+1-MCP	$30.33 \pm 0.92^{\text{dA}}$	$23.02 \pm 1.13^{\text{bB}}$	$12.02 \pm 1.01^{\text{ab}}$	$14.61 \pm 0.67^{\text{bA}}$	$19.63 \pm 0.51^{\text{ab}}$
60	mMAP	$32.32 \pm 1.01^{\text{bB}}$	$25.04 \pm 1.85^{\text{aA}}$	$12.60 \pm 0.05^{\text{ab}}$	$15.80 \pm 0.37^{\text{aA}}$	$21.27 \pm 0.78^{\text{aA}}$
	1-MCP	$34.72 \pm 1.25^{\text{aA}}$	$24.63 \pm 0.67^{\text{aA}}$	$12.78 \pm 1.45^{\text{aA}}$	$15.31 \pm 0.43^{\text{bA}}$	$21.07 \pm 1.17^{\text{aA}}$
	mMAP+1-MCP	$33.19 \pm 0.86^{\text{ab}}$	$24.56 \pm 0.26^{\text{aA}}$	$12.65 \pm 0.64^{\text{aA}}$	$13.74 \pm 0.48^{\text{bB}}$	$17.67 \pm 0.32^{\text{bB}}$

注:不同的小写字母表示相同时间不同处理组间差异显著($P < 0.05$);不同的大写字母表示相同处理不同时间间差异显著($P < 0.05$)。

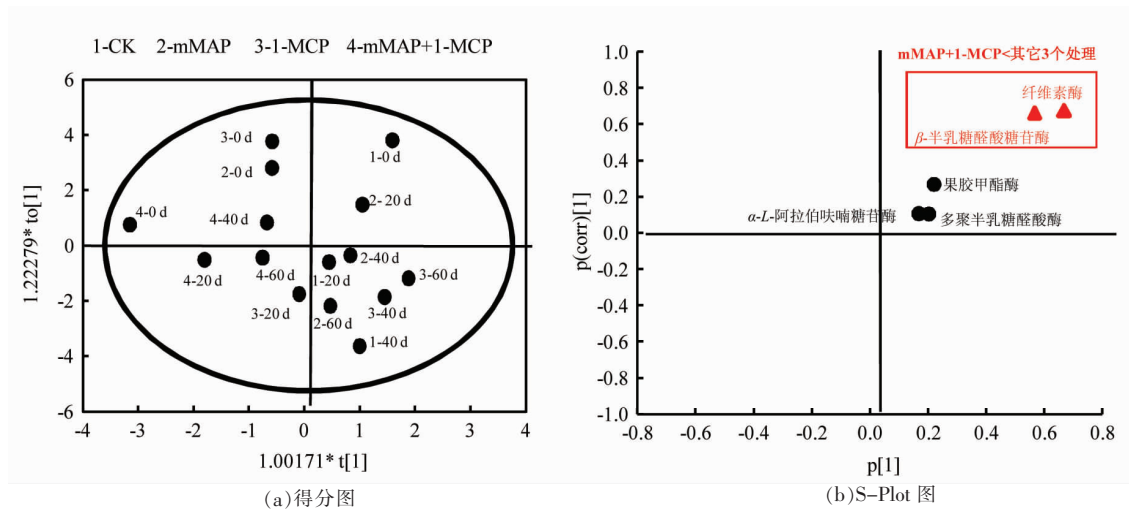


图3 mMAP+1-MCP处理与另外3个处理的OPLS-DA分析

Fig.3 The OPLS-DA analysis of mMAP+1-MCP and the other three treatments

2.4 微环境气调对蓝莓果实细胞壁关键降解酶基因表达的影响

由图4a可得,贮藏0~20 d,mMAP和1-MCP处理后蓝莓果实中Cx基因表达量高于对照,说明气调和1-MCP处理均可刺激蓝莓中Cx的启动。

CK和1-MCP处理组在贮藏0 d时Cx基因表达量达到最高,mMAP和mMAP+1-MCP处理则在贮藏60 d时基因表达量达到最高值,而在2.3节Cx活性分析中得CK、mMAP和1-MCP处理组蓝莓在贮藏40 d时达到峰值,mMAP+1-MCP处理在

贮藏 60 d 达到活性峰值,说明 CK 和 1-MCP 处理组的 *Cx* 基因表达优先于其酶活,mMAP 和 mMAP+1-MCP 处理均可通过延缓基因表达峰值到来从而有效抑制蓝莓贮藏过程中 *Cx* 基因表达。

由图 4b 可得,随着贮藏时间的延长,mMAP+1-MCP 处理 β -Gal 基因表达量呈现先降低后上升的趋势,而其它 3 组呈现出先上升后降低的趋势。CK 组在贮藏 20 d 时 β -Gal 基因表达量达到峰值,与 β -Gal 活性峰值出现时间相同,mMAP 在贮

藏 20 d 时基因表达量达到峰值,1-MCP 在贮藏 40 d 时基因表达量达到峰值,对应表 2 可知,mMAP 和 1-MCP 处理的 β -Gal 基因表达量优先于 β -Gal 活性,而 mMAP+1-MCP 处理的 β -Gal 基因表达量则晚于其 β -Gal 活性,在贮藏 60 d 时才达到基因表达量峰值,而在贮藏 20 d 和 40 d β -Gal 基因表达量均低于其它处理组,表明 mMAP+1-MCP 可通过延缓 β -Gal 基因表达量峰值到来,从而有效抑制蓝莓中 β -Gal 的基因表达。

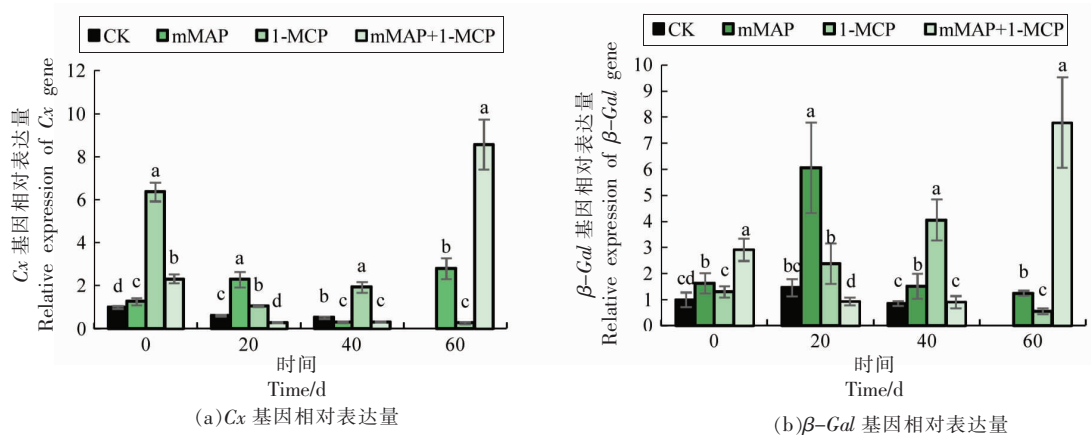


图 4 微环境气调对蓝莓贮藏期 *Cx*(a)和 β -Gal(b)基因相对表达量的影响

Fig.4 The effects of micro-environmental modified atmosphere on relative expression of *Cx* (a) and β -Gal (b) gene of blueberries during storage

3 讨论

mMAP 和 mMAP+1-MCP 处理组中气调元件的渗透作用和蓝莓果实的呼吸作用使箱内气体成分保持一个适合蓝莓贮藏的低氧高二氧化碳的动态平衡。3 个处理均可降低软果率,mMAP+1-MCP 处理效果最显著($P < 0.05$)且 mMAP 结合 1-MCP 处理在贮藏结束时可以保持更高的果实硬度。

Wang 等^[23]的研究表明蓝莓果实软化与品质劣变和果实衰老密切相关,软化是蓝莓果实采后品质劣变的主要原因,人们普遍认为水果软化部分与细胞壁聚合物发生的改变有关^[24]。Wang 等^[25]指出,果胶物质的降解、PE 及 PG 的表达导致蓝莓软化。Chea 等^[26]指出,阿拉伯糖的大量流失及半纤维素含量的降低与蓝莓果实软化息息相关。从本文的研究结果来看,随着贮藏期延长,纤维素和半纤维素不断被降解,果胶由不溶转化为可溶,从而使果实质地不断变软,mMAP 和 1-MCP 处理有效

地保持较高的纤维素、半纤维素和原果胶含量,抑制贮藏中前期可溶性果胶含量的增加,与以往研究结果具有相似之处。

细胞壁多糖的降解与果实中的相关酶密切相关。*Cx* 是一种复合酶类,在成熟果实中含量丰富,可降解羧甲基纤维素、木葡聚糖和具有葡聚糖结构的物质^[27]。PG 是重要的水解酶,其可水解多聚半乳糖醛酸^[28],破坏细胞壁结构,使果实变软。PME 主要通过作用于半乳糖醛酸残基中的 C-6 酯化基团来参与果胶物质的脱甲基化反应,促进高酯化的果胶转化为去酯化的果胶酸,为 PG 提供作用基质^[29]。 α -Af 是一种糖苷酶类,它可以通过水解非还原味喃阿拉伯糖残基来降解细胞壁中的阿拉伯半乳糖、阿拉伯甘露聚糖等中性糖,增加果胶的可溶性,促进其降解^[30]。 β -Gal 主要降解果胶和半纤维素,同时对糖蛋白和糖脂也有降解作用^[31]。纪淑娟等^[32]研究表明蓝莓的软化和 *Cx*、PG 及 β -Gal 活

性密切相关。Chen等^[33]研究表明,冷藏可以通过抑制Cx、PG和 β -Gal酶活性延缓果胶的增溶,抑制蓝莓果实软化。本研究结果表明,mMAP+1-MCP在贮藏中后期能够抑制Cx、PG、PME、 β -Gal和 α -Af活性,利用OPLS-DA分析可得,mMAP+1-MCP与其它处理组差异性指标为Cx、 β -Gal,通过这两种关键细胞壁降解酶的基因表达分析表明,mMAP+1-MCP处理延缓了贮藏期间Cx和 β -Gal基因表达量的出峰时间。

4 结论

微环境气调(mMAP+1-MCP)可以延缓抑制细胞壁降解酶的活性以及Cx和 β -Gal基因表达量出峰时间,延缓细胞壁多糖的降解,有效减缓蓝莓果实贮藏过程中的软化,维持果实的硬度。

参 考 文 献

- [1] 黄晓杰. 采后处理对蓝莓果实衰老的作用及机理研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
HUANG X J. Effect and mechanism of postharvest treatment on blueberry fruit senescence[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016.
- [2] 李丽敏. 中国蓝莓产业发展研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
LI L M. Research on the development of blueberry industry in China[D]. Changchun: Jinlin Agricultural University, 2011.
- [3] CHU W J, GAO H Y, CHEN H J, et al. Effects of cuticular wax on the postharvest quality of blueberry fruit[J]. Food Chemistry, 2018, 239(15): 68-74.
- [4] 孙文丽, 郜海燕, 韩延超, 等. EPE减振包装对蓝莓贮藏品质的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(10): 232-239.
SUN W L, GAO H Y, HAN Y C, et al. Effects of EPE vibration-damping packaging on the storage quality of blueberry[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(10): 232-239.
- [5] 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.
- [6] 高雅, 王琛, 魏宝东, 等. 蓝莓保鲜技术研究进展[J]. 辽宁农业科学, 2017(6): 53-55.
GAO Y, WANG C, WEI B D, et al. Research progress of blueberry preservation technology[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2017(6): 53-55.
- [7] 王琛. ⁶⁰Co γ 辐照处理对蓝莓保鲜效应及其细胞壁降解机理的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
WANG C. Study on the preservation effect of ⁶⁰Co γ irradiation treatment on blueberry and the degradation mechanism of cell wall[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016.
- [8] 刘永国, 蔡琦玮, 王友升. 蓝莓果实的品质劣变及其控制技术[J]. 食品科技, 2013, 38(8): 85-88.
LIU Y G, CAI Q W, WANG Y S. Mechanism of quality deterioration and controlling technology of blueberry fruit[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(8): 85-88.
- [9] 李天元. 贮藏微环境气体调控保鲜浆果的技术研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2016.
LI T Y. Study on the technology of keeping berries fresh by regulating the storage microenvironment gas[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2016.
- [10] 张鹏, 李天元, 李江阔, 等. 贮藏微环境气体调控对精准相温贮藏后阳丰甜柿货架品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(10): 121-128.
ZHANG P, LI T Y, LI J K, et al. Effect of microenvironment gas regulation on the quality of sweet persimmon after accurate phase temperature storage[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(10): 121-128.
- [11] 赵杰, 佟伟, 李振茹, 等. 不同气调贮藏方式对水蜜桃保鲜效果的影响[J]. 中国果树, 2017(3): 38-40.
ZHAO J, TONG W, LI Z R, et al. Effects of different controlled atmosphere storage methods on the fresh-keeping effect of honey peach[J]. China Fruits, 2017(3): 38-40.
- [12] 张鹏, 朱文月, 李江阔, 等. 微环境气体调控在果蔬保鲜中的研究进展[J]. 包装工程, 2020, 41(1): 1-10.
ZHANG P, ZHU W Y, LI J K, et al. Research progress of microenvironment gas regulation in preservation of fruits and vegetables[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(1): 1-10.

- [13] 刘振通. 箱式气调对葡萄、软枣猕猴桃冷藏品质调控效应的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
LIU Z T. Study on the effect of box controlled atmosphere on the cold storage quality of grape, soft jujube and kiwi fruit[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017.
- [14] FALAGÁN N, MICLO T, TERRY L A. Graduated controlled atmosphere: A novel approach to increase "Duke" blueberry storage life[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 221.
- [15] PARK M H, SANGWANANGKUL P, CHOI J W. Reduced chilling injury and delayed fruit ripening in tomatoes with modified atmosphere and humidity packaging [J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 231: 66–72.
- [16] CANTÍN C M, MINAS I S, GOULAS V, et al. Sulfur dioxide fumigation alone or in combination with CO₂-enriched atmosphere extends the market life of highbush blueberry fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2012, 67: 84–91.
- [17] 薛璐, 刘小路, 鲁晓翔, 等. 近红外漫反射无损检测蓝莓硬度的研究[J]. *浙江农业学报*, 2015, 27(9): 147–152.
XUE L, LIU X L, LU X X, et al. Non-destructive detection of blueberry hardness based on near-infrared diffused spectroscopy [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2015, 27(9): 147–152.
- [18] 韩双双. 不同脱涩方法对磨盘柿货架品质及 *ADH* 基因表达情况调查[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2019.
HAN S S. Effects of different astringency removal methods on shelf quality and *ADH* gene expression of Mopan persimmon[D]. Shenyang: Liaoning University, 2019.
- [19] CHANG E H, LEE J S, KIM J G. Cell wall degrading enzymes activity is altered by high carbon dioxide treatment in postharvest 'Mihong' peach fruit [J]. *Scientia Horticulturae*, 2017, 225: 399–407.
- [20] 章宁琰. 臭氧处理及气调包装对蓝莓采后贮藏品质和生理代谢的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2017.
ZHANG N Y. Effects of ozone treatment and modified atmosphere packaging on postharvest storage quality and physiological metabolism of blueberries [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2017.
- [21] VICENTE A R, ORTUGNO C, POWELL A L T, et al. Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. 1. Analysis of raspberry (*Rubus idaeus*) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(10): 4119–4124.
- [22] 赵云峰, 林河通, 林娇芬, 等. 果实软化的细胞壁降解酶及其调控研究进展[J]. *仲恺农业工程学院学报*, 2006, 19(1): 65–70.
ZHAO Y F, LIN H T, LIN J F, et al. A review of cell wall-degrading enzymes in fruit softening and their control[J]. *Journal of Zhongkai University of Agriculture and Technology*, 2006, 19(1): 65–70.
- [23] WANG S Y, ZHOU Q, ZHOU X, et al. The effect of ethylene absorbent treatment on the softening of blueberry fruit [J]. *Food Chemistry*, 2018, 246(25): 286–294.
- [24] ANGELETTI P, CASTAGNASSO H, MICELI E, et al. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2010, 58(2): 98–103.
- [25] WANG S Y, ZHOU Q, ZHOU X, et al. Ethylene plays an important role in the softening and sucrose metabolism of blueberries postharvest[J]. *Food Chemistry*, 2020, 310(25): 125965.
- [26] CHEA S, YU D J, PARK J, et al. Fruit softening correlates with enzymatic and compositional changes in fruit cell wall during ripening in 'Bluecrop' highbush blueberries [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 245: 163–170.
- [27] 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.
- [28] 张丙秀, 王傲雪, 李景富. 番茄果实细胞壁水解酶研究进展 [J]. *东北农业大学学报*, 2009, 40(1): 128–132.
ZHANG B X, WANG A X, LI J F. Progress on cell wall hydrolase of tomato fruit [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2009, 40(1): 128–132.
- [29] 宣继萍, 王刚, 贾展慧, 等. 李属植物果实成熟软化研究进展[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(31): 104–118.
XUAN J P, WANG G, JIA Z H, et al. Research advances of ripening and softening in *Prunus* fruit[J].

- Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31 (31): 104-118.
- [30] 贾艳茹. 鸭梨和京白梨果实质地变化及其细胞壁多糖降解特性研究[D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2012.
- JAI Y R. Study on the changes of fruit parenchyma and the degradation characteristics of cell wall polysaccharides in Ya pear and Jingbai pear [D]. Qinhuangdao: Hebei Normal University of Science & Technology, 2012.
- [31] 田爱梅, 刘金龙, 曹家树. 植物 β -半乳糖苷酶[J]. 中国细胞生物学学报, 2014(5): 703-707.
- TIAN A M, LIU J L, CAO J S. Beta galactosidase in plants[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2014 (5): 703-707.
- [32] 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 S J, BU F Y, ZHOU Q, et al. Effects of refrigeration on cell wall components and cell wall-degrading enzyme activities of blueberries[J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(6): 199-204.
- [33] CHEN H J, CAO S F, FANG X J, et al. Changes in fruit firmness, cell wall composition and cell wall degrading enzymes in postharvest blueberries during storage[J]. Scientia Horticulturae, 2015, 188: 44-48.

Regulation of Micro-environmental Modified Atmosphere on the Softening of Blueberries during Storage

Zhang Peng^{1,2}, Zhu Wenyue³, Xue Youlin³, Jia Xiaoyu^{1,2}, Li Jiangkuo^{1,2*}

(¹Institute of Agricultural Products Preservation and Processing Technology, Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300384

²National Engineering and Technology Research Center for Preservation of Agricultural Products (Tianjin), Key Laboratory of Storage of Agricultural Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, Tianjin 300384

³College of Light Industry, Liaoning University, Shenyang 110036)

Abstract In order to study the effect of micro-environmental modified atmosphere on blueberries during storage, micro-environmental modified atmosphere package (mMAP), 1-methylcyclopropene (1-MCP) and micro-environmental modified atmosphere package combined with 1-methylcyclopropene (mMAP+1-MCP) were used to treat blueberries, and the untreated blueberries were used as control. The blueberries after treated were stored in cold storage (-0.5 ± 0.3) °C, and fruit firmness, contents of cell wall polysaccharide, activities of cell wall degrading enzyme and key degrading enzyme gene expression were measured at 0, 20, 40 and 60 day during storage. The results showed that the three treatments could significantly reduce the soft fruit rate compared with the control group ($P < 0.05$), and the effect of mMAP + 1-MCP treatment was the best. The fruit firmness of mMAP + 1-MCP treatment was significantly higher than other treatments ($P < 0.05$), with higher content of cellulose and protopectin. The hemicellulose of it was higher than other treatments in the early stage of storage while the soluble pectin content remained lower in the early and medium stage. According to the analysis of cell wall degrading enzymes, the activities of cellulase(Cx), polygalacturonases (PG) and pectinmethylesterases (PME) of mMAP+1-MCP treatment group were the lowest at 40 day of storage, and the activities of β -galactosidase (β -Gal) and α -L-arabinofuranosidase (α -Af) of mMAP+1-MCP treatment were significantly ($P < 0.05$) lower than those of other treatments during 60 day. Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) showed that the differences between mMAP+1-MCP treatment and other treatments were Cx and β -Gal, the expression of the two key cell wall degrading enzymes was analyzed and the results showed that mMAP+1-MCP treatment could effectively delay the time which peak value occurs of Cx and β -Gal genes during storage of blueberries. Therefore, the mMAP+1-MCP treatment could delay the time which peak value occurs of the gene expression of Cx and β -Gal and inhibit the activities of Cx and β -Gal in the late stage of storage, maintaining the contents of cellulose and pectin, and then slow down the softening of fruits.

Keywords blueberry; micro-environmental modified atmosphere; storage; softening