

果胶甲酯化修饰与果实质地变化研究进展

侯 娇, 严丹丹, 黄美珠, 曾凯芳, 姚世响*
(西南大学食品科学学院 重庆 400715)

摘要 甲酯化修饰发生在果胶主链的自由羧基,与果实质地变化密切相关。近年来,基于模式植物的研究揭示:果胶甲酯化修饰在植物生长发育和抗逆等生物学途径中具有关键调控作用,然而,果胶甲酯化修饰在果实领域的研究尚处于起步阶段。本文从果胶甲酯化修饰的概况、研究方法、生物学功能,与果实质地变化的关系及调控机制 5 个方面综述果胶甲酯化修饰与果实质地变化的研究进展,旨在为相关研究提供参考。

关键词 果胶; 甲酯化修饰; 果胶甲酯酶; 果胶甲酯酶抑制子; 果实质地

文章编号 1009-7848(2022)04-0441-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.04.043

果胶是植物初生细胞壁和中胶层的主要组分,与果实成熟衰老过程中质地变化密切相关^[1]。细胞壁的天然果胶呈高甲酯化状态,作为果胶分子的主要修饰,甲酯化是在主链 C-6 位羧基催化连接甲酯基团,多糖分子由电负性变为中性。甲酯化修饰状态改变影响果胶分子的化学性质和生物学功能。果实成熟衰老过程伴随质地软化,主要与果胶降解影响细胞壁完整性和细胞间黏连有关^[1]。果实生理紊乱常伴随质地劣变,如柑橘枯水,苹果粉质化,桃果肉絮败等,与果胶代谢,特别是果胶甲酯化修饰密切相关^[2-5]。本文概述果胶甲酯化修饰与果实质地变化的研究进展,为相关研究提供参考。

1 果胶甲酯化修饰概况

1.1 果胶的化学修饰

果胶是 β -D-半乳糖醛酸通过 α -1,4-糖苷键连接形成主链,由鼠李糖等 20 余种中性糖组成侧链的多糖分子^[6]。根据主链和侧链的组成不同,果胶分子可分为 3 种,分别为同型半乳糖醛酸聚糖(Homogalacturona, HG)、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖-I 和鼠李糖半乳糖醛酸聚糖-II。HG 型果胶的主链

由半乳糖醛酸组成,含量最高,约占总果胶的 65%^[7]。HG 型果胶主链易发生化学修饰,C-6 位发生甲酯化修饰,O-2 和 O-3 位发生乙酰化修饰^[8]。

1.2 甲酯化修饰对果胶的影响

HG 型果胶分子在合成时完成甲酯化修饰,并以高甲酯化状态(>80%)分泌到胞外^[7]。果胶甲酯酶(Pectin methylesterase, PME)是催化果胶去甲酯化,生成低甲酯化度果胶的关键酶^[8-9]。果胶甲酯化修饰至少包括甲酯化修饰程度和甲酯化修饰模式 2 个方面。甲酯化修饰程度(简称“甲酯化度”)是指半乳糖醛酸残基发生甲酯化修饰的比例,甲酯化修饰模式则与 PME 的催化方式有关。PME 有“块状”和“随机”两种方式催化。“块状”催化指至少连续 10 个半乳糖醛酸的甲酯基团被催化,形成块状的去甲酯化多聚半乳糖醛酸主链;“随机”催化是 PME 以“非块状”的方式催化果胶去甲酯化,产生的去甲酯化基团在多聚半乳糖醛酸主链上呈随机分布的特点^[8-9]。两种催化方式生成具有不同甲酯化模式的果胶,相应的化学性质和功能也有所差异。

HG 型果胶去甲酯化后暴露自由羧基,为果胶代谢酶等其它生物大分子提供作用位点^[8]。去甲酯化是果胶代谢途径的关键步骤,通常“块状”催化产生的低甲酯化度果胶在细胞壁有较高浓度 Ca^{2+} 时,两条 HG 主链与 Ca^{2+} 交联成“蛋盒”结构,形成凝胶,使细胞壁硬度增加^[8]。若果胶分子以“随机”催化方式去甲酯化,裸露的羧基提供了多聚半乳糖醛酸酶(Polygalacturonase, PG)和果胶裂解酶

收稿日期: 2021-08-04

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32172262,31972131);
重庆市研究生科研创新项目(CYS21118)

作者简介: 侯娇(1997—),女,硕士生

通信作者: 姚世响 E-mail: ysx2015@swu.edu.cn

(Pectatelyase, PL)等果胶代谢酶攻击的靶点,此时如果细胞壁果胶降解酶活性较高,低甲酯化度果胶则进入降解途径,最终解离成游离的半乳糖醛酸,细胞壁机械强度降低,细胞软化^[8]。去甲酯化果胶在细胞壁中的命运如何决定,与PME催化方式、细胞壁中阳离子浓度以及其它果胶代谢酶活性等因素有复杂的关系,有待进一步深入研究。

1.3 调控果胶甲酯化修饰的酶

果胶合成的前体物质二磷酸尿苷半乳糖醛酸(UDP-GalA)和S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine)在高尔基体中经半乳糖醛酸转移酶(Galacturonosyltransferases, GAUT)和果胶甲基转移酶(Pectin methyltransferase, PMT)协同作用,催化生成多聚半乳糖醛酸并完成C-6羧基的甲酯化修饰^[7]。拟南芥GAUT家族共15个成员,目前发现GAUT1、GAUT4、GAUT7和GAUT8与果胶合成有关,其中GAUT1经过生化鉴定有半乳糖醛酸转移酶活性^[10]。QUA2、QUA3和CGR3是目前拟南芥中鉴定具有功能的PMT^[11]。

PME是催化果胶去甲酯化修饰的关键酶,根据结构域可分为两类,第1类含有PME结构域,第2类除含有PME结构域,在N端还含有一个果胶甲酯酶抑制子(Pectin methylesterase inhibitor, PME1)结构域,称为PRO结构域^[12]。第2类PME需要先将前体切除后才能释放,而切下来的PRO结构域可能具有帮助PME折叠和分泌,抑制PME酶活等作用^[12-13]。PME是多基因家族,从拟南芥、番茄、桃、梨和枣基因组中分别鉴定出66, 79, 69, 81, 46个成员。植物PME在生长发育和抗逆过程中具有重要作用,目前关于PME基因的功能研究大部分集中在拟南芥。拟南芥VGD1、AtPME3、AtPME5、AtPME6、AtPME31、AtPME35、AtPME41、AtPME58在细胞伸长、植物生长和发育、盐胁迫、温度胁迫和生物胁迫中发挥重要功能^[12-18]。玉米Gal1位点的PME基因调控玉米单向杂交不亲和^[19]。番茄PE2和PMEU1催化果胶去甲酯化,促进“蛋壳”结构形成,增强细胞壁硬度,负调控果实软化^[20-22]。草莓PME基因FaPE1在果实成熟中具有类似于番茄PME负调控果实软化的功能^[23]。

2 果胶甲酯化修饰的研究方法

2.1 化学方法

傅里叶红外光谱法(Fourier transform infrared spectrum, FT-IR)、化学滴定法、比色法、气相色谱法、高效液相色谱法、核磁共振法、电泳法和质谱法等在内的化学方法可定量分析果胶甲酯化度,即主链半乳糖醛酸残基C-6位甲酯化修饰占半乳糖醛酸C-6羧基总数的比例^[24]。其中,FT-IR法使用尤为广泛,具有不破坏样品且样品起始量少、测定过程快、结果准确等优点^[25]。FT-IR法是利用半乳糖醛酸的羧基在 $1\ 630\sim 1\ 600\text{ cm}^{-1}$ 处有红外吸收峰,而甲酯化羧基在 $1\ 740\text{ cm}^{-1}$ 处有红外吸收峰,根据吸收峰强度和面积与果胶标准品的关系可计算样品的甲酯化度^[25]。

2.2 免疫荧光标记技术

免疫荧光标记技术是将免疫学方法与荧光标记技术结合,用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察特异抗原在细胞内定位的方法^[22]。目前有识别不同甲酯化度果胶的特异性抗体,2F4抗体可识别完全去甲酯化的果胶或低甲酯化度果胶与Ca²⁺结合形成的“蛋壳”结构,LM19和JIM5抗体识别低甲酯化度果胶,LM20和JIM7抗体识别高甲酯化度果胶^[22, 26]。果胶甲酯化度与荧光强度呈正相关,免疫荧光标记法可对细胞壁果胶甲酯化度的时空分布特征进行准确定量分析,在研究中应用广泛。

3 基于模式植物对果胶甲酯化修饰的生物学功能的研究

果胶作为植物初生细胞壁和中胶层的主要成分,与纤维素、半纤维素相互作用形成复杂的网络结构,果胶甲酯化修饰通过调控果胶化学性质,在维持细胞壁完整性,调控植物生长发育和抗逆中起重要作用^[8-9, 27-29]。

3.1 果胶甲酯化修饰调控植物生长发育

细胞生长时受细胞膨压和细胞壁机械力两种相对的作用力调控^[30]。近些年研究显示果胶及其甲酯化修饰在细胞伸长、植物生长发育过程中起重要调控作用^[30-31]。当细胞壁整体处于疏松和有弹性的状态时,细胞膨压驱动细胞无偏向性向外扩

张;当细胞壁某个特定区域的机械强度和弹性发生改变时,细胞在膨压驱动下则会发生向特定方向的伸长和扩张^[30]。细胞生长过程中,通常是高甲酯化度与快速伸长相关,如细胞极性生长过程中,顶端细胞壁需要不断解体 and 重组,果胶维持高甲酯化度,而非伸长区的果胶则维持低甲酯化度^[32]。花粉管和下胚轴的细胞伸长与高甲酯化度呈正相关,当降低 PME 酶活性,抑制果胶去甲酯化后,可以增加细胞伸长速率^[8,32]。不过细胞伸长并不总是与高甲酯化度相关,研究发现低甲酯化度更有利于细胞伸长。利用拟南芥在萌发和生长初期形成的弯钩这个实验体系,发现拟南芥在面临土壤机械压力时,弯钩两侧细胞壁的果胶甲酯化度呈非对称分布,果胶甲酯化度低的一侧,其细胞伸长更快^[27]。拟南芥在暗培养时,下胚轴细胞快速伸长,形成花原基等生物学过程都需要果胶处于低甲酯化状态^[33]。果胶甲酯化度与细胞伸长存在确定因果关系,然而并不是简单的线性关系,不同的实验体系,甲酯化度对细胞伸长和扩张的影响可能是不同的。目前鲜有研究对其原因的探讨,笔者分析认为这可能与 PME 催化方式、细胞壁环境的阳离子浓度及果胶代谢酶活性有关系。“块状”催化生成的果胶通过与 Ca^{2+} 交联增加细胞壁硬度,而“随机”催化生成的果胶在环境条件合适时可能进入降解途径^[8]。最新研究发现果胶甲酯化度偏高或者偏低都不利于拟南芥侧根起始和形成,这提示果胶在调控植物生长发育过程中,不仅仅是甲酯化度和甲酯化模式很重要,而且不同甲酯化度果胶的相对比例也很重要^[31]。

3.2 果胶甲酯化修饰调控植物抗性

细胞壁的结构重组在植物细胞响应非生物胁迫中发挥重要作用^[34]。通常情况盐胁迫、低温胁迫、高温胁迫和干旱胁迫诱导果胶去甲酯化,低甲酯化果胶可能与 Ca^{2+} 形成“蛋盒”结构,增加细胞壁机械强度,提高对胁迫的耐受性^[34]。油菜素内酯通过调控果胶去甲酯化增强拟南芥对低温胁迫的耐受性,其中 *AtPME41* 发挥重要作用^[35]。拟南芥 *AtPME31* 调控果胶去甲酯化和植物对盐胁迫的耐受性,基因突变后植株呈盐敏感表型^[36]。复苏植物 (*Craterostigma plantagineum*) 在干旱胁迫时,果胶去甲酯化,与 Ca^{2+} 形成凝胶,提高细胞壁机械强

度;这种果胶甲酯化度的改变被细胞膜激酶 WAK1 识别并激发信号转导通路,介导包括细胞壁重组等在内的细胞干旱应答途径^[37]。植物遭遇重金属胁迫时,果胶趋于去甲酯化,有助于果胶与重金属离子结合,将其固定在细胞壁中,减轻对细胞质的毒性。目前发现 Al^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 F^{-} 等胁迫均与果胶去甲酯化相关,其中 *AtPME3* 参与了植物对 Zn^{2+} 的响应^[38-39]。

与非生物胁迫不同,植物在响应生物胁迫时果胶甲酯化度呈复杂的变化特征^[28]。敲除拟南芥 PME 基因 *AtPME3*,或者过表达 PME1 基因 *AtPME11* 和 *AtPME12*,抑制果胶去甲酯化,增强拟南芥对灰霉病、软腐病和甜菜胞囊线虫的抗性^[28]。另外 *AtPME13* 可通过抑制果胶去甲酯化,维持果胶处于高甲酯化状态,抵抗蚜虫侵袭^[12]。草莓 PME 基因 *FaPE1* 过表达后,能够显著降低果胶甲酯化度,增强抗病能力^[23,40]。

4 果胶甲酯化修饰与果实质地变化的关系

果胶作为初生细胞壁和中胶层的主要组分,在维持细胞壁完整性和细胞间黏连中起关键作用。果胶代谢和果实成熟、衰老和生理紊乱时的质地变化密切相关。

4.1 果实成熟衰老过程中果胶甲酯化修饰的动态变化

果实成熟与衰老过程中,果胶普遍呈降解趋势,这是果实软化的主要原因。果胶根据溶解性可分为水溶性果胶 (Water-soluble pectin, WSP)、离子结合型果胶 (Chelate-soluble pectin, CSP) 和共价结合型果胶 (Sodium carbonate-soluble pectin, SSP)^[1,6]。其中 CSP 主要位于中胶层,与其它细胞壁组分以离子键或氢键形成稳定结构,包括与 Ca^{2+} 等二价阳离子形成“蛋盒”结构,不溶于水,能溶于螯合剂溶液。SSP 主要位于初生壁,通过共价键与纤维素、半纤维素或蛋白连接,常用含螯合剂的碱溶液从细胞壁中提取。果实成熟与衰老过程中的质地软化,通常伴随着 WSP 含量的增加。苹果、猕猴桃、黄花梨、葡萄、龙眼、桃、枣等果实在成熟衰老过程中具有显著的质地软化现象,研究结果显示 WSP 含量显著增加,提示果胶呈降解趋

势^[1]。PME 是催化果胶去甲酯化,进入降解途径的关键酶。果实成熟衰老过程中,番茄、草莓、苹果、香蕉、龙眼等 PME 编码基因表达和酶活呈增加趋势^[1]。上述证据提示果胶甲酯化度在果实软化过程中呈降低趋势。番茄和草莓果实的研究证实了这一点。番茄果胶甲酯化度在果实成熟衰老过程中逐渐降低^[41];在草莓果实成熟过程中,果胶甲酯化度逐渐下降,从未成熟时期的 90%左右下降至成熟时期的不足 40%^[23]。

4.2 果实生理紊乱过程中果胶甲酯化修饰的动态变化

与果实成熟衰老过程中质地软化不同,果实生理紊乱常伴随果实质地劣变,如苹果质地变绵,桃果实冷害时果肉絮状,柑橘枯水时汁胞粒化。目前,生理数据暗示果胶甲酯化修饰可能与果实生理紊乱过程中质地劣变有关。桃果实絮败时 WSP 含量下降,果胶降解被抑制,同时 CSP 含量升高,暗示果胶甲酯化度降低后与 Ca^{2+} 交联形成“蛋盒”结构^[5]。苹果 PME 基因 *MdPME2* 与果实粉质化性状紧密相关,在果实中的高表达可能催化果胶以“块状”方式去酯化,促进去甲酯化果胶与 Ca^{2+} 结合形成凝胶,维持细胞壁完整性,防止果肉粉质化^[2]。柑橘枯水时汁胞粒化,脐橙和蜜柚枯水进程中,PME 酶活和相关基因表达上升,但果胶降解被抑制,这暗示果胶甲酯化度降低,同时细胞壁 Ca^{2+} 含量上升,与果胶形成“蛋盒”结构,CSP 含量增加^[3-4]。考虑果实在生理紊乱时质地劣变的特征,结合果胶降解被抑制和 PME 酶活升高的试验证据,可以推测果胶在果实生理紊乱时发生去甲酯化修饰,与 Ca^{2+} 形成“蛋盒”结构,抑制了果胶降解途径,同时增加了细胞壁硬度,这可能是果实生理紊乱过程中质地劣变的一种普遍机制。

4.3 果胶甲酯化修饰对果实质地变化的调控作用

上述研究显示果胶甲酯化修饰参与了果实成熟、衰老和生理紊乱时的质地变化过程,那么采后处理时提高 PME 酶活和 Ca^{2+} 浓度,是否可以促进“蛋盒”结构形成并缓解果实质地劣变?外源 PME 和 Ca^{2+} 联合处理采后枣果实,能抑制果胶物质降解,维持枣果实质地特性^[42];这种联合处理也能够有效改善树莓质地品质,延长货架期^[43]。上述采后

处理能够有效改善果实质地,其重要原因是促进了果胶去甲酯化,形成了“蛋盒”结构,提高了细胞壁硬度。采后热处理改善苹果贮藏时质地特性,与果胶甲酯化度降低有关^[44]。采后壳聚糖处理能够抑制草莓果实 PME 活性,抑制果胶降解,提示壳聚糖是通过维持高甲酯化度来改善果实质地^[45]。采后 UV-C 和热风处理都能够抑制 PME 酶活性,延缓番茄果实软化^[46]。上述证据显示果胶低甲酯化度能够增强采后果实硬度,同时部分果实中果胶高甲酯化度也能维持果实硬度。不同研究的结果之间并不矛盾,因为果实在不同条件下,PME 催化方式、阳离子浓度以及果胶代谢酶活性都可能存在差异。

5 果胶甲酯化修饰的调控机制

5.1 果胶甲酯化修饰的蛋白水平调控

果胶甲酯化修饰在蛋白水平上受 PME 及调控 PME 的其它蛋白所调控。PME 酶活受 PMEI 直接调控,PMEI 通过特异性地结合至 PME 活性位点形成 1:1 蛋白复合物,阻止 PME 和果胶结合,发挥抑制作用^[47]。PMEI 是多基因家族,拟南芥有 79 个成员,其中 AtPMEI4 抑制 AtPME17 酶活,AtPMEI2 抑制 AtPPME1 酶活^[47]。PMEI 在识别 PME 时特异性不强,单个 PMEI 可以抑制多个 PME 的酶活,甚至可以跨物种抑制,如辣椒 PMEI 可抑制拟南芥 PME 活性,猕猴桃 PMEI 可抑制番茄 PME 活性;不过,植物 PMEI 不能抑制真菌来源的 PME^[48]。目前部分 PMEI 基因的功能得到鉴定,拟南芥 AtPMEI3、AtPMEI5、AtPMEI6 抑制果胶去甲酯化,调控器官和种皮粘液质形成等植物生长发育过程^[49]。梨 PbrPMEI23、39、41 通过改变花粉管顶端不同甲酯化度果胶的分布调控花粉管生长^[50]。拟南芥 AtPMEI13、棉花 GhPMEI3 和辣椒 CaPMEI1 通过负调控果胶去甲酯化,促进细胞壁软化,提高植物抗病能力^[12,28]。

能够直接调控 PME 的蛋白还有枯草菌素样丝氨酸蛋白酶 SBTs (Subtilases)、FLYs (FLYING SAUCER) 和 MUD (MUCILAGE DEFECT) 等^[8,51]。SBTs 主要通过参与第二类 PME 的加工,切除 PRO 结构域,调控 PME 功能。SBT6.1 与 PME 互作且共定位于高尔基体,SBT6.1 突变影响 PME 正

常加工。SBT3.5 参与 PME17 的剪切,烟草叶片瞬时表达 SBT3.5,能够加工 PME17,释放成熟的 PME。SBT1.7 是果胶甲酯酶的抑制因子,可以直接抑制 PME 酶活,负调控果胶去甲酯化。另外,FLY1 和 MUD1 是可能作用于 PME 的 E3 泛素连接酶,通过调控蛋白稳定性,调节果胶^[51]。

5.2 果胶甲酯化修饰的转录水平调控

果胶甲酯化修饰的转录水平研究还处于起步阶段,目前主要集中在调控 PME 和 PME1 转录的转录因子,试验体系以拟南芥种皮粘液质为主。目前共鉴定了 6 个转录因子,包括 SEEDSTICK (STK)、MYB52、LEUNIG-HOMOLOG (LUH)、BLH2、BLH4 和 ERF4 调控拟南芥种皮粘液质形成过程中的果胶甲酯化修饰^[49]。转录因子 STK 通过激活 *PME16* 表达,抑制果胶去甲酯化;转录因子 MYB52 通过激活 *PME16*、*PME114* 和 *SBT1.7* 等基因表达,抑制果胶去甲酯化;而转录因子 LUH 可直接激活 STK 和 MYB52 直接调控的所有靶基因^[52]。转录因子 BLH2 和 BLH4 通过激活 PME58 正调控果胶去甲酯化,同时抑制果胶去甲酯化的负调控因子 *STK* 和 *MYB52*^[53]。ERF4 通过直接抑制 *PME113*、*PME114*、*PME115* 和 *SBT1.7*,正调控果胶去甲酯化。作为粘液质形成过程中果胶去甲酯化的正调控因子和负调控因子,ERF4 和 MYB52 能够直接互作,拮抗其转录调节活性,实现对果胶甲酯化修饰的精细调控^[49]。

目前在拟南芥中共鉴定到 1 个来自种皮粘液质研究体系之外可直接调控 PME 的转录因子^[54]。植物叶序是侧生器官在茎上经过精准调控而形成,果胶甲酯化参与其中。转录因子 BELLRINGER 通过在茎分生组织抑制靶基因 *PME5*,同时在茎伸长组织中激活 *PME5*,控制果胶去甲酯化度的空间分布,从而精准调控植物叶序的建成^[54]。

番茄转录因子 SIBES1 (BRI1-EMS-SUPPRESSOR1) 是油菜素内酯信号通路中的关键组分,也是目前发现的能调控果实果胶甲酯化修饰的唯一转录因子^[22]。SIBES1 直接抑制果胶甲酯酶 *PMEU1* 转录,负调控果胶去甲酯化,抑制“蛋盒”结构形成,促进果实软化。当 SIBES1 突变后,*PMEU1* 的转录抑制被解除,果胶去甲酯化途径被

激活,果胶甲酯化度降低,促进了“蛋盒”结构形成,增加了细胞壁硬度,延缓了果实软化。研究提示 SIBES1 在改善果实质地方面具有潜在的应用价值^[22]。

5.3 其它调控因子

果胶甲酯化修饰在蛋白水平及转录水平受到精细调控,这些调控因子受植物激素、过氧化氢、pH 和金属离子等其它因子调控。

生长素通过改变果胶甲酯化度调控细胞生长^[8]。拟南芥顶端弯钩形成由两侧细胞非对称生长所致,而这种差异性生长是由两侧细胞生长素浓度差异所介导的果胶甲酯化非对称性分布所调控的,生长素浓度低诱导更低的果胶甲酯化水平,促进细胞更快伸长^[27]。草莓果实中,生长素促进未成熟时期 *FaPE1* 的转录,正调控果胶去甲酯化,维持果实硬度^[40]。

油菜素内酯参与果胶甲酯化修饰的调控。拟南芥细胞壁 PME 活性的抑制会激活油菜素内酯信号通路,最终上调 PME 基因的转录,构成油菜素内酯反馈信号通路,实现对细胞壁机械强度稳态的精细调控^[55]。油菜素内酯通过调控 *AtPME41* 转录,激活 PME,正调控果胶去甲酯化,促进拟南芥细胞壁变硬和耐低温^[35]。油菜素内酯通过信号通路关键转录因子 SIBES1,抑制 *PMEU1*,负调控果胶去甲酯化,促进番茄果实软化^[22]。过氧化氢能够激活水稻 PME 酶活性,正调控果胶去甲酯化修饰,促进细胞扩张^[56]。目前过氧化氢是否影响果实甲酯化修饰,还不清楚。

pH 可以直接影响 PME 酶活^[48,57]。不同 PME 具有不同的 pI,最佳酶活所需 pH 不同,多数植物 PME 酶活的最适 pH 在中性到碱性范围。因为 *PMEI*:PME 蛋白复合体的形成和稳定通常具有 pH 依赖特征,所以 pH 可通过影响 *PMEI*:PME 互作调控 PME 酶活^[48,57]。

阳离子可以影响 PME 酶活^[57]。细胞壁 Ca^{2+} 可与带负电荷的羧基相互作用,产生稳定的胶体结构,这种结构可能有助于提高 PME 酶活。除了 Ca^{2+} ,其它阳离子也参与调控 PME 酶活。番茄 *PMEU1* 在 NaCl 浓度低于 0.08 mol/L 时,随盐离子浓度增加而酶活增强^[21]。

6 结语

质地是影响果实品质和决定采后贮运性能的关键因素,果实质地变化及其调控机制是采后生物学领域长期以来关注的关键科学问题。近年来,基于模式植物的研究发现果胶作为与质地密切相关的细胞壁组分,其甲酯化修饰通过影响细胞壁弹性和机械性能,在植物生长发育和抗逆等过程中具有重要调控功能。其作为细胞壁领域的一个研究热点和重点,目前在果实领域的研究已展现出果胶甲酯化修饰在果实质地中具有重要调控功能。总的来说,在果实采后领域果胶甲酯化修饰的研究还处于起步阶段,当前还存在几个主要问题,这也可能是未来研究的趋势。1)果实质地变化(软化和劣变)和果胶甲酯化修饰(包括修饰程度和修饰模式)的关系。2)果实生理紊乱具有发病原因复杂、极难防控的特点,是采后领域的研究难点,目前研究揭示生理紊乱的质地变化与果胶甲酯化修饰有较强关系,这为研究果实生理紊乱提供了新思路。3)果胶去甲酯化后的命运是进入降解途径,还是形成“蛋壳”结构,相关的影响因素有哪些?相关的调控机制是什么?对这些问题的回答,将有助于理解果实质地变化的生物学基础,同时为开发调控果实质地变化的精准保鲜技术提供理论基础。

参 考 文 献

- [1] WANG D, YEATS T H, ULUISIK S, et al. Fruit softening: Revisiting the role of pectin[J]. Trends in Plant Science, 2018, 23(4): 302-310.
- [2] SEGONNE S M, BRUNEAU M, CELTON J, et al. Multiscale investigation of mealiness in apple: An atypical role for a pectin methylesterase during fruit maturation[J]. BMC Plant Biology, 2014, 14(1): 375.
- [3] YAO S, WANG Z, CAO Q, et al. Molecular basis of postharvest granulation in orange fruit revealed by metabolite, transcriptome and methylome profiling[J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 166: 111205.
- [4] LI Q, YAO S, DENG L, et al. Changes in biochemical properties and pectin nanostructures of juice sacs during the granulation process of pomelo fruit (*Citrus grandis*) [J]. Food Chemistry, 2022, 376: 131876.
- [5] FRUK G, CMELIK Z, JEMRIC T, et al. Pectin role in woolliness development in peaches and nectarines: A review[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 180: 1-5.
- [6] 李倩倩, 付佳璇, 赵玉梅, 等. 果胶降解与采后果实质地变化研究进展[J]. 中国食品学报, 2019, 19(9): 298-307.
LI Q Q, FU J X, ZHAO Y M, et al. Progress on pectin and texture change of postharvest fruits[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(9): 298-307.
- [7] ATMODJO M A, HAO Z, MOHNEN D, et al. Evolving views of pectin biosynthesis[J]. Annual Review of Plant Biology, 2013, 64(1): 747-779.
- [8] LEVESQUE-TREMBLAY G, PELLOUX J, BRAYBROOK S A, et al. Tuning of pectin methylesterification: Consequences for cell wall biomechanics and development[J]. Planta, 2015, 242(4): 791-811.
- [9] WOLF S, MOUILLE G, PELLOUX J. Homogalacturonan methyl-esterification and plant development[J]. Molecular Plant, 2009, 2(5): 851-860.
- [10] GUO H, XIAO C, LIU Q, et al. Two galacturonosyltransferases function in plant growth, stomatal development, and dynamics[J]. Plant Physiology, 2021, 187(4): 2820-2836.
- [11] DU J, KIRUI A, HUANG S, et al. Mutations in the pectin methyltransferase QUASIMODO2 influence cellulose biosynthesis and wall integrity in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2020, 32(11): 3576-3597.
- [12] SILVA-SANZANA C, CELIZ-BALBOA J, GARZO E, et al. Pectin methylesterases modulate plant homogalacturonan status in defenses against the aphid *Myzus persicae* [J]. Plant Cell, 2019, 31(8): 1913-1929.
- [13] DEL CORPO D, FULLONE M R, MIELE R, et al. AtPME17 is a functional *Arabidopsis thaliana* pectin methylesterase regulated by its PRO region that triggers PME activity in the resistance to *Botrytis cinerea* [J]. Molecular Plant Pathology, 2020, 21(12): 1620-1633.
- [14] HONGO S, SATO K, YOKOYAMA R, et al. Demethylesterification of the primary wall by PECTIN METHYLESTERASE35 provides mechanical support to the *Arabidopsis* stem [J]. Plant Cell,

- 2012, 24(6): 2624–2634.
- [15] LEROUX C, BOUTON S, KIEFER-MEYER M, et al. PECTIN METHYLESTERASE48 is involved in *Arabidopsis* pollen grain germination[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(2): 367–380.
- [16] LEVESQUE-TREMBLAY G, MÜLLER K, MANSFIELD S D, et al. HIGHLY METHYL ESTERIFIED SEEDS is a pectin methyl esterase involved in embryo development[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(3): 725–737.
- [17] BETHKE G, THAO A, XIONG G, et al. Pectin biosynthesis is critical for cell wall integrity and immunity in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell*, 2016, 28(2): 537–556.
- [18] HUANG Y, WU H, WANG Y, et al. PECTIN METHYLESTERASE34 contributes to heat tolerance through its role in promoting stomatal movement[J]. *Plant Physiology*, 2017, 174(2): 748–763.
- [19] ZHANG Z, ZHANG B, CHEN Z, et al. A PECTIN METHYLESTERASE gene at the maize Ga1 locus confers male function in unilateral cross-incompatibility[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3678.
- [20] TIEMAN D M, HANDA A K. Reduction in pectin methylesterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Fruits[J]. *Plant Physiol*, 1994, 106(2): 429–436.
- [21] PHAN T D, BO W, WEST G, et al. Silencing of the major salt-dependent isoform of pectinesterase in tomato alters fruit softening[J]. *Plant Physiology*, 2007, 144(4): 1960–1967.
- [22] LIU H, LIU L, LIANG D, et al. SIBES1 promotes tomato fruit softening through transcriptional inhibition of PME1[J]. *iScience*, 2021, 24(8): 102926.
- [23] OSORIO S, BOMBARELY A, GIAVALISCO P, et al. Demethylation of oligogalacturonides by *FaPE1* in the fruits of the wild strawberry *Fragaria vesca* triggers metabolic and transcriptional changes associated with defence and development of the fruit[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(8): 2855–2873.
- [24] JERMENDI É, BEUKEMA M, VAN DEN BERG M A, et al. Revealing methyl-esterification patterns of pectins by enzymatic fingerprinting: Beyond the degree of blockiness[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 277: 118813.
- [25] KYOMUGASHO C, CHRISTIAENS S, SHPIGEL-MAN A, et al. FT-IR spectroscopy, a reliable method for routine analysis of the degree of methylesterification of pectin in different fruit- and vegetable-based matrices[J]. *Food Chemistry*, 2015, 176: 82–90.
- [26] LI Q, XU R, FANG Q, et al. Analyses of microstructure and cell wall polysaccharides of flesh tissues provide insights into cultivar difference in mealy patterns developed in apple fruit[J]. *Food Chemistry*, 2020, 321: 126707.
- [27] JONSSON K, LATHE R S, KIERZKOWSKI D, et al. Mechanochemical feedback mediates tissue bending required for seedling emergence[J]. *Current Biology*, 2021, 31(6): 1154–1164.
- [28] WAN J, HE M, HOU Q, et al. Cell wall associated immunity in plants[J]. *Stress Biology*, 2021, 1(1): 3.
- [29] QI J, WU B, FENG S, et al. Mechanical regulation of organ asymmetry in leaves[J]. *Nature Plants*, 2017, 3(9): 724–733.
- [30] HAAS K T, WIGHTMAN R, MEYEROWITZ E M, et al. Pectin homogalacturonan nanofilament expansion drives morphogenesis in plant epidermal cells[J]. *Science*, 2020, 367(6481): 1003–1007.
- [31] WACHSMAN G, ZHANG J, MORENO-RISUENO M A, et al. Cell wall remodeling and vesicle trafficking mediate the root clock in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2020, 370(6518): 819–823.
- [32] MOLLET J, LEROUX C, DARDELLE F, et al. Cell wall composition, biosynthesis and remodeling during pollen tube growth[J]. *Plants*, 2013, 2(1): 107–147.
- [33] PEAUCELLE A, WIGHTMAN R, HÖFTE H. The control of growth symmetry breaking in the *Arabidopsis* hypocotyl[J]. *Current Biology*, 2015, 25(13): 1746–1752.
- [34] ZHAO C, ZHANG H, SONG C, et al. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity[J]. *Innovation*, 2020, 1(1): 100017.
- [35] QU T, LIU R, WANG W, et al. Brassinosteroids regulate pectin methylesterase activity and ATPME41 expression in *Arabidopsis* under chilling stress[J]. *Cryobiology*, 2011, 63(2): 111–117.
- [36] YAN J, HE H, FANG L, et al. Pectin methylesterase31 positively regulates salt stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Biochemical and Biophysical*

- Research Communications, 2018, 496(2): 497–501.
- [37] CHEN P, GIAROLA V, BARTELS D. The craterostigma plantagineum protein kinase CpWAK1 interacts with pectin and integrates different environmental signals in the cell wall[J]. *Planta*, 2021, 253(5): 92.
- [38] LUO J, NI D, LI C, et al. The relationship between fluoride accumulation in tea plant and changes in leaf cell wall structure and composition under different fluoride conditions[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 270: 116283.
- [39] WEBER M, DEINLEIN U, FISCHER S, et al. A mutation in the *Arabidopsis thaliana* cell wall biosynthesis gene pectin methylesterase 3 as well as its aberrant expression cause hypersensitivity specifically to Zn[J]. *The Plant Journal*, 2013, 76(1): 151–164.
- [40] CASTILLEJO C. Pectin esterase gene family in strawberry fruit: Study of FaPE1, a ripening-specific isoform[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(398): 909–918.
- [41] HYODO H, TERAOKA A, FURUKAWA J, et al. Tissue specific localization of pectin-Ca²⁺ cross-linkages and pectin methyl-esterification during fruit ripening in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78949.
- [42] ZHANG L, WANG P, CHEN F, et al. Effects of calcium and pectin methylesterase on quality attributes and pectin morphology of jujube fruit under vacuum impregnation during storage[J]. *Food Chemistry*, 2019, 289(15): 40–48.
- [43] YAN R, HAN C, FU M, et al. Inhibitory effects of CaCl₂ and pectin methylesterase on fruit softening of raspberry during cold storage [J]. *Horticulturae*, 2022, 8(1): 1.
- [44] NOAH B S, JACOB H, RIVKA P, et al. Cell wall changes and partial prevention of fruit softening in prestorage heat treated ‘anna’ apples[J]. 1996, 72(2): 231–234.
- [45] LIU K, LIU J, LI H, et al. Influence of postharvest citric acid and chitosan coating treatment on ripening attributes and expression of cell wall related genes in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit [J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 100(198): 1–11.
- [46] BU J, YU Y, AISIKAER G, et al. Postharvest UV-C irradiation inhibits the production of ethylene and the activity of cell wall-degrading enzymes during softening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2013, 86(3): 337–345.
- [47] SAEZ-AGUAYO S, RALET M, BERGER A, et al. PECTIN METHYLESTERASE INHIBITOR6 Promotes *Arabidopsis* mucilage release by limiting methylesterification of homogalacturonan in seed coat epidermal cells[J]. *Plant Cell*, 2013, 25(1): 308–323.
- [48] SÉNÉCHAL F, HABRYLO O, HOCQ L, et al. Structural and dynamical characterization of the pH-dependence of the pectin methylesterase-pectin methylesterase inhibitor complex[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(52): 21538–21547.
- [49] DING A, TANG X, YANG D, et al. ERF4 and MYB52 transcription factors play antagonistic roles in regulating homogalacturonan de-methylesterification in *Arabidopsis* seed coat mucilage[J]. *Plant Cell*, 2021, 33(2): 381–403.
- [50] ZHU X, TANG C, LI Q, et al. Characterization of the pectin methylesterase inhibitor gene family in Rosaceae and role of PbrPMEI23/39/41 in methylesterified pectin distribution in pear pollen tube[J]. *Planta*, 2021, 253(6): 118.
- [51] SUN J, YUAN C, WANG M, et al. MUD1, a RING-v E3 ubiquitin ligase, has an important role in the regulation of pectin methylesterification in *Arabidopsis* seed coat mucilage[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 168: 230–238.
- [52] SHI D, REN A, TANG X, et al. MYB52 negatively regulates pectin demethylesterification in seed coat mucilage[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(4): 2737–2749.
- [53] XU Y, WANG Y, WANG X, et al. Transcription factors BLH2 and BLH4 regulate demethylesterification of homogalacturonan in seed mucilage[J]. *Plant Physiology*, 2020, 183(1): 96–111.
- [54] PEAUCELLE A, LOUVET R, JOHANSEN J N, et al. The transcription factor BELLRINGER modulates phyllotaxis by regulating the expression of a pectin methylesterase in *Arabidopsis*[J]. *Development*, 2011, 138(21): 4733–4741.
- [55] PEAUCELLE A, LOUVET R, JOHANSEN J N, et al. *Arabidopsis* phyllotaxis is controlled by the methyl-esterification status of cell-wall pectins [J]. *Current Biology*, 2008, 18(24): 1943–1948.

- [56] XIONG J, YANG Y, FU G, et al. Novel roles of hydrogen peroxide H_2O_2 in regulating pectin synthesis and demethylesterification in the cell wall of rice (*Oryza sativa*) root tips[J]. *New Phytologist*, 2015, 206(1): 118–126.
- [57] SAFFER A M. Expanding roles for pectins in plant development[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2018, 60(10): 910–923.

Progress on Pectin Methylesterification and Texture Change of Fruits

Hou Jiao, Yan Dandan, Huang Meizhu, Zeng Kaifang, Yao Shixiang*
(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract Methylesterification occurs in the free carboxyl group of the main chain of pectin, which is closely related changes of fruit texture. Recently, it is well established that pectin methylesterification plays a key regulatory role in various biological pathways including plant growth and development, tolerance of abiotic and biotic stress, according to research in model plants. However, the research of pectin methylesterification in the fruit is still in its infancy. The present study was aimed to review the relationship between pectin methylesterification and texture change of fruit via the following five aspects, including the brief introduction, analytical techniques, biological function, relationship with texture change of fruit and regulatory mechanism, aiming to provide reference for related research.

Keywords pectin; methylesterification; pectin methylesterase; pectin methylesterase inhibitor; fruit texture