间歇升温对芒果果实冷害及谷胱 甘肽、抗坏血酸代谢的影响*

戴宏芬 季作樑 张昭其(华南农业大学园艺系,广州,510642)

摘要 紫花芒(Mangifera indica L. Zihua)在冷害温度 (2 ± 0.5) ℃下贮藏,经间歇升温处理后,延缓了2种抗氧化指标:还原型谷胱甘肽(GSH)、还原型维生素 C(AsA)含量下降,这样维持较高水平的内源自由基清除剂较长时间,减慢了氧化型谷胱甘肽(GSSG)、氧化型维生素 C(DHA)、膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量和细胞膜透性上升,明显减轻冷害症状,是一种有效的抗冷害措施.

关键词 自由基消除剂;间歇升温;冷害;谷胱甘肽;维生素 C 中图分类号 S 667.3

紫花芒果(Mangifera indica L. Zihua)是热带、亚热带地区著名出口水果,但因其生长在热带,贮藏中极易受冷害。自从人们发现 SOD,并证明其功能是清除 O2 以后,自由基伤害学说广泛地用于研究需氧生物细胞的毒害机理,认为植物细胞内存在着活性氧自由基(O2 、OH、1O2和 H2O2等)产生与清除动态平衡,但在植物器官衰老劣变过程中,特别当植物处于逆境条件下,该平衡遭到破坏,自由基增加导致膜脂过氧化加剧,膜透性增大,离子泄漏,严重时导致植物伤害或死亡(刘祖祺等,1994)。间歇升温能提高果蔬的抗寒性(Eliahou,1988),但它与内源自由基清除剂的关系以及减轻芒果冷害的作用机理还缺乏系统研究。本试验旨在从自由基伤害学说的角度,探讨间歇升温减轻芒果果实冷害机理,为芒果采后低温贮运减少冷害和探索新的贮运方法提供理论和应用依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料和预处理

本试验重复 2 a 完成.供试验的紫花芒,1995、1996 年由省农科院果树研究所提供.试验所用试剂中,还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、谷胱甘肽还原酶(GR)、辅酶 II (NADPH)和 DTNB(5,5'-二巯基-2,2'-二硝基苯甲酸)由美国农业部 Beltsville 农业研究中心石秀瑛博士赠送.

采收成熟度约 8 成的紫花芒,置于 IL-82 型低温环境箱(日本)中贮藏.分为 2 个处理,每处理 30 kg,(1)(2±0.5) ℃贮藏;(2)间歇升温处理,芒果在(2±0.5) ℃贮藏过程中,第 4 d,之后每隔 7 d,移至室温(35 ℃)下恢复 1 d. 每处理重复 2 次,通过观察芒果冷害发展情况,在第 0、3、8、15、22、29 d 时,定期取样测定.

1998-09-15 收稿 戴宏芬,女,26岁,硕士,现在广东省农科院果树研究所工作

^{*} 国家自然科学基金(39570514)和广东省自然科学基金(930411)资助项目

1.2 方法

细胞膜透性的测定:定期取样,每处理随机取2个果,削取0.5 mm 厚的果皮,参照李锦树等(1986)方法测定,每处理重复测定3次

MDA 含量测定:定期取样,每处理随机取 2 个果,削取 0.5 mm 厚的果皮,参照刘祖祺等 (1994)方法测定,每处理重复测定 3 次.

GSH 含量测定:定期取样,每处理随机取 2 个果,削取 0.5 mm 厚的果皮,以 1/10 加入提取介质(w = 3%的偏磷酸溶液,含 10 mmol/L 异抗坏血酸)破碎,4 ℃,4 000 r/min 离心 10 min,倾上清液供 GSH、GSSG 测定.参照 Ellman 等(1959)方法测定 GSH 含量,每处理重复测定 2 次.

GSSG 含量测定:提取方法同 GSH 含量测定,参照 Brehe 等(1976)方法测定,每处理重复测定2次.

AsA 含量测定:定期取样,每处理随机取2个果,削取0.5 mm 厚的果皮,参照(食品分析) (大连轻工业学院等编,1994)中2.6-二氯靛酚染料滴定法测定,每处理重复测定3次。

DHA 含量测定:定期取样,每处理随机取 2 个果,削取 0.5 mm 厚的果皮,参照(食品分析)(大连轻工业学院等编,1994)方法,根据 2,4 - 二硝基苯肼比色法,测出总抗坏血酸含量,减去 AsA 含量,即得 DHA 含量,每处理重复测定 3 次.

2 结果与分析

2.1 不同处理芒果的贮藏效果

2 ℃果 8 d 时轻微冷害,15、22 d 时完全冷害,29 d 时,移至室温,立即变色、软烂,说明机体趋向死亡.间歇升温处理果 15、22 d 时轻微冷害,29 d 时完全冷害.轻微冷害果催熟时,果肉转黄变软,果面有褐色斑点.完全冷害果,整个果实果皮呈烫伤状,不能转黄,有的果果尖有凹陷褐斑,无法食用.

2.2 间歇升温对细胞膜透性影响

由图 1 可知, 随冷害发展, 2 ℃果膜透性增加, 间歇升温不同程度地降低了细胞膜透性, 说明间隙升温可减轻冷害低温对细胞膜的伤害.

2.3 间歇升温对 MDA 含量的影响

由图 2 可知,2 ℃果随冷害发展,MDA 含量增加.间歇升温不同程度地降低了 MDA 含量, 随贮期延长,逐渐接近2 ℃果.

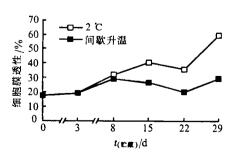


图 1 间歇升温对细胞膜透性的影响

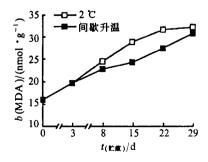


图 2 间歇升温对 MDA 含量(鲜质量)的影响

2.4 间歇升温对 GSH 和 GSSG 含量的影响

由图 3 可知,2 ℃果 3 d时, GSH 含量速降,8 d时上升形成高峰.间歇升温果 8、15 d时,GSH含量略低于对照,22 d时上升形成峰值,明显高于对照.

2 ℃果 GSSG 含量 8 d 后上升, 22 d 时达到高峰,间歇升温果在 0 ~22 d 时,不同程度地降低了 GSSG 含量,29 d 时,GSSG 仍有较高含量, 而 2 ℃果趋向死亡,有机物大量分 解,GSSG 含量极低.

2.5 间歇升温对 AsA 和 DHA 含量的影响

由图 4 可知,2 ℃果 3 d 时, AsA 含量上升形成高峰,之后迅降, 15 d 时,降至稳定低水平.间歇升温果变化趋势与2 ℃果相似,但含量比对照高,延缓了 AsA 含量下降.

2 ℃果 DHA 含量在 0~8 d 缓慢下降,8~22 d 迅速上升,之后下降.间歇升温果 DHA 含量变化趋势同 2 ℃果,但含量比对照低.

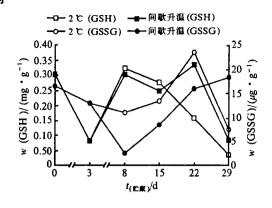


图 3 间歇升温对 GSH 和 GSSC 含量(鲜质量)的影响

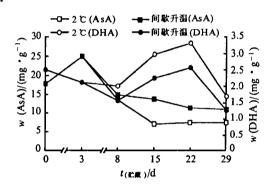


图 4 间歇升温对 AsA 和 DHA 含量(鲜质量)的影响

3 讨论

本试验中,2 ℃贮藏芒果经间歇升温处理后,延长 7 d 发生冷害,人们在桃子、柠檬(Elia-hou,1988)等诸多果蔬冷藏中应用间歇升温,也发现明显延长贮藏寿命,增强抗寒性,说明间歇升温是一种有效的抗冷害措施.

本试验中,2 ℃贮藏芒果经间歇升温处理后,提高了 2 种抗氧化指标 GSH 和 AsA 含量,维持自由基清除剂较高水平较长时间,由此提高了机体清除自由基能力,维持活性氧动态平衡较长时间,从而减缓了 GSSG、DHA、MDA 和膜透性增加,减轻了膜损伤程度,延迟冷害发生 . GSH、AsA 是植物体内有效的自由基清除剂,在 AsA—GSH 循环中,它们协同作用,清除 O₂ 和 H₂O₂,此外,还可通过多条途径清除活性氧自由基,在维持膜结构完整性和防御膜脂被自由基和脂氢过氧化物过氧化中起重要作用(Sigrid,1990).用外源 GSH 处理水稻、玉米、苋菜(林植芳等,1988),外源 AsA 处理水稻(汤学军等,1993)明显抑制 MDA 积累,缓解膜脂过氧化,提高抗逆性.

本试验从自由基伤害学说的角度出发,认为间歇升温提高了芒果细胞膜还原水平和抗氧化能力,减轻膜脂过氧化程度,对稳定细胞膜结构具一定保护作用,但间歇升温减轻冷害是多种因素的综合结果.只要冷害尚处于可逆阶段,贮藏中提高温度有助于组织分解、排除冷害中

积累的有毒代谢产物,补充冷害中消耗掉的物质,修补冷害造成的膜、细胞器和代谢途径的损伤,此外,升温期间有助于增加呼吸作用,增加能量供应,使 ATP 的形成,氧化磷酸化得到恢复 (Eliahou,1988).

在果蔬采后"冷链"贮运中,当贮运条件不佳时,进行简便易行的间歇升温处理,可以明显减轻冷害,而且可以使冷敏与非冷敏果蔬混合贮运,因此在商业上具重要意义.笔者建议在生产上使用间歇升温要因果品而异,摸索出最佳温度、时间组合,尽可能维持较高内源自由基清除剂水平较长时间,从而延长保鲜期.

参考 文献

大连轻工业学院,华南理工大学,郑州轻工业学院,等编,1994. 食品分析,北京:中国轻工业出版社,285~288

刘祖祺,张石城.1994. 植物抗性生理学.北京:中国农业出版社,371~372

李锦树, 宓容钦 .1986. 植物生理学手册. 上海: 上海科学技术出版社,67~69

汤学军,王 康.1993. 激动素和抗坏血酸保护受冷害苗细胞膜和促进 SOD 合成的效应. 植物学报,35 (增刊):45~49

林植芳, 李双顺, 林桂珠. 1988. 衰老叶片和叶绿体中 H_2O_2 的累积与膜脂过氧化的关系. 植物生理学报, $14(1):16\sim22$

Brehe J E, Burch H B. 1976. Enzymatic assay for glutathione. Anal Biochem, 74:189 ~ 197

Eliahou C. 1988. Commercial use of long-term storage of lemon with intermittent warming. Hortscience, 23(2):400

Ellman G L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Anal Biochem Biophysics, 82;70 ~ 77

Sigrid K, Ina Z, Heinz C. 1990. Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of ricinus communis by ascorbate peroxidase. Plant Cell Physiol, 31(7):1 005 ~ 1 013

The Effect of Intermittent Warming on Chilling Injury and Metabolism of Glutathione Ascorbic Acid of Mango Fruit

Dai Hongfen Ji Zuoliang Zhang Zhaoqi (Dept. of Hort., South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract The extent to which intermittent warming reduced chilling injury of mango stored under (2 ± 0.5) °C was investigated. The chilling injury was reduced obviously if mango stored under (2 ± 0.5) °C was intermittently treated with warming. The membrane permeability increased more slowly than that in the untreated samples. Intermittent warming also delayed the decrease of reduced glutathione (GSH) and ascorbic acid(AsA). The level of those parameters were kept higher for longer time than in untreated samples. So intermittent warming is an effective anti-chilling injury measure.

Key words scavengers of free redicals; intermittent warming; chilling injury; glutathione; ascorbic acid

【责任编辑 柴 烙】