

过氧化氢诱导采后香蕉耐冷性的研究

潘少丽¹, 黄椿颖¹, 王海波¹, 庞学群², 黄雪梅¹, 张昭其¹

(1 华南农业大学 广东省果蔬保鲜重点实验室, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:为了探讨过氧化氢(H_2O_2)诱导香蕉耐冷性的作用,本试验研究了外源 H_2O_2 、茉莉酸甲酯(MJ)和水杨酸(SA)处理对采后香蕉果实冷害的影响.结果表明:SA、MJ和 H_2O_2 处理在不同程度上减轻了香蕉果实的冷害症状,延缓了果实硬度和PPO活性的提高,维持了果皮颜色,延缓了细胞膜透性的提高和抑制了冷害诱导的呼吸强度的提高,推测 H_2O_2 可作为信号分子诱导采后香蕉果实的耐冷能力.

关键词:香蕉果实; 过氧化氢; 水杨酸; 茉莉酸甲酯; 冷害

中图分类号:S667.2

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2007)04-0034-04

Hydrogen Peroxide Induced Chilling-Resistance of Postharvest Banana Fruit

PAN Shao-li¹, HUANG Chun-ying¹, WANG Hai-bo¹, PANG Xue-qun², HUANG Xue-mei¹, ZHANG Zhao-qi¹

(1 Guangdong Key Lab for Postharvest Technology of Fruits and Vegetables, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China; 2 College of Life Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: In order to understand the role of hydrogen peroxide on the chilling resistance of banana fruits, the effects of hydrogen peroxide, salicylic acid (SA) and methyl jasmonate (MJ) on chilling injury of postharvest banana fruits were investigated. The results indicated that hydrogen peroxide, salicylic acid and methyl jasmonate treatments alleviated the chilling injury symptoms on harvested banana fruits to a different extent. All the treatments could retard change of the fruit color and increase of fruit hardness, PPO activity, relative electrical conductivity and respiration rate. This study suggested that hydrogen peroxide could be used as a signaling molecule, which induced the chilling resistance of postharvest banana fruits.

Key words: banana fruit; hydrogen peroxide; salicylic acid; methyl jasmonate; chilling injury

香蕉是我国华南地区出口和北运的主要水果之一.香蕉果实对低温非常敏感,果实在生长季节遭遇低温寒冷天气,或者在贮运过程中温度低于11℃就易发生冷害,造成极大的经济损失^[1].因此研究香蕉果实冷害及减轻果实冷害的作用机理,对于寻找能减轻香蕉果实及其他果蔬冷害的措施会产生积极作用.大量研究表明,冷害低温引起采后果蔬自由基产生与清除系统平衡破坏,导致细胞活性氧的累积,如 H_2O_2 的累积^[2].长期以来, H_2O_2 被认为跟其他活性氧 $HO^·$ 、 $O_2^·-$ 一样,是对植物细胞具有毒害作用的代谢产物,然而近年来 H_2O_2 作为植物细胞内的一个信号分子受到人们关注, H_2O_2 信号转导作用已经

被越来越多的实验所证实^[3].低浓度的 H_2O_2 可以激活细胞的抗氧化系统,提高植物耐冷性.本文采用外源 H_2O_2 溶液及能够激发植物产生内源 H_2O_2 的茉莉酸甲酯^[4]和水杨酸^[5]等物质处理采后香蕉果实,探讨 H_2O_2 是否能够提高采后香蕉果实耐冷性.

1 材料与方法

1.1 材料及处理

所选香蕉品种为巴西 Musa. AAA Group cv. 'Brazil',采自广州番禺,果实饱满度为7~8成.在果园落梳后立即运回实验室,挑选大小均匀,无病虫害及机械伤的果实,用1g/L漂白粉洗果,再用

收稿日期:2006-10-15

作者简介:潘少丽(1974—),女,硕士; 通讯作者:张昭其(1965—),男,教授,博士,E-mail: zqzhang@scau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(30471219);广东省自然科学基金团队项目(06200670)

0.5 g/L施保功浸果 2 min, 捞出晾干, 平均分成 4 组。根据预备试验结果, 诱导处理设计如下: 对照(CK): 塑料薄膜袋包装置于 25 °C 下 24 h; H_2O_2 处理: 20 mmol/L H_2O_2 溶液喷洒香蕉果实, 25 °C 下置于塑料薄膜袋中密封 24 h; 水杨酸(SA)处理: 0.72 mmol/L SA 溶液喷洒香蕉果实, 25 °C 下置于塑料薄膜袋中密封 24 h; 茉莉酸甲酯(MJ)处理: 在 25 °C 下密闭容器中用 0.1 mmol/L MJ 熏蒸处理 24 h。然后将 4 组果实分别装入打孔的塑料薄膜袋中, 于 7 °C 恒温箱中贮藏, 重复 3 次。定期取样测定相关生理指标。

1.2 方法

1.2.1 硬度测定 使用美国英斯特朗公司生产的 Instron 5542 单立柱台式电子万能材料试验机(硬度计)进行硬度测定, 探头形状为圆形, 探头直径为 8 mm, 探头移动速度为 400 mm/min。取其下压过程中最大应力值(单位: N)为果实硬度值, 每个果实在不同部位至少测定 3 次, 20 °C 恢复 24 h 后测定。

1.2.2 果皮颜色的测定 参照 Mcguire^[6]的方法用日产 NR-3000 型全自动测色色差计测定果实颜色。工作条件: C/2 光源, 测定光斑直径为 10 mm, 以标准白板为标准样, 标准白板在 C/2 光源下 X(红色)、Y(绿色)、Z(蓝色)分别为 92.78、94.64、108.27。测定 L(光泽明亮度)、C(色饱和度)、h(色泽)值, 重复 3 次, 20 °C 恢复 24 h 后测定。

1.2.3 电导率测定 参照张昭其等^[7]的方法。取香蕉果皮, 用直径 10 mm 的打孔器打 10 个圆孔, 蒸馏水清洗 3 次后用滤纸吸干, 放入 50 mL 具塞刻度试管中, 加入 25 mL 蒸馏水, 静置 30 min, 用 DDS-11A 型电导仪测电导率。煮沸 30 min 后再测电导率, 以前后 2 次电导率之比所得的相对电导率来表示细胞膜透性。重复 3 次, 20 °C 恢复 24 h 后测定。

1.2.4 呼吸强度的测定 参照段学武等^[8]的方法。取 3 个果指(即 1 个重复)置入 2 000 mL 的密封罐中, 在贮藏温度下密闭 2 h 后抽气 1 mL, 用日本岛津 GC-17A 型气相色谱测定, 每处理 3 个重复, 每重复抽气 3 针。气相色谱仪工作条件为: 色谱柱: Molecular sieve 5A 和 Porapak Q 同心双层柱, 载气 N_2 ; 柱温 60 °C; 采用热导池检测器(TCD), 温度 120 °C; 载气流速 30 mL/min。重复 3 次, 20 °C 恢复 24 h 后测定。

1.2.5 多酚氧化酶(PPO)活性的测定 参照 Jiang 等^[9]的方法。取香蕉果皮冻样 1 g, 加入 4 mL 0.05 mol/L 的磷酸缓冲液(pH7.8)和 0.2 g 聚乙烯吡咯烷酮(PVP), 冰浴研磨, 15 000 r/min 于 4 °C 下离心 15 min, 上清液用于酶活性的测定。反应液包括: 1 g/L 邻苯二酚 2.5 mL, 酶液 0.4 mL。测定 180 s 内 $D_{398\text{ nm}}$ 值的变化, 每 10 s 读 1 次数, 以每分钟变化

0.001 记为 1 个酶活力单位(U), 酶的活性以 U/g 表示, 重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 诱导处理对香蕉冷害症状的影响

未经任何处理(对照)的香蕉果实在 7 °C 下贮藏 3 d, 果皮表现出轻微冷害症状, 有少许褐色小凹陷斑点, 但此时 H_2O_2 、SA、MJ 处理的果实均表现正常。贮藏 5 d 后, 对照果实果皮颜色变褐, 失去光泽, 凹陷斑进一步扩大, 虽然能后熟, 但果实不均匀转黄; H_2O_2 、SA 处理冷害症状非常轻微, 只出现少许褐色凹陷斑点, 能正常后熟, MJ 处理无冷害症状出现。贮藏 8 d 后, 对照果实冷害症状进一步加重, 果皮绝大部分变黑, 冷害斑渍面积进一步增大, 果肉硬化, 完全不能后熟; H_2O_2 、SA 处理的果实亦出现比较严重的冷害症状, MJ 处理的果实出现轻微冷害症状。贮藏 10 d 后, H_2O_2 、SA 处理的果实与对照果实冷害症状进一步加深, 不能正常后熟, MJ 也表现严重冷害症状, 虽然能后熟, 但果实不均匀转黄。贮藏 12 d 后, 4 种处理均不能正常后熟。可见, 适当浓度的 H_2O_2 、SA、MJ 处理采后香蕉果实, 均能在一定程度上诱导香蕉果实的耐冷性, 其中 MJ 诱导耐冷的效果最好。

2.2 诱导处理对香蕉果实硬度的影响

由图 1 可见, 随着冷藏时间的延长, 香蕉果实硬度持续升高, SA、MJ、 H_2O_2 处理的果实硬度比对照低。可见, 冷害导致香蕉果实硬度增加, 而延缓冷害的处理则可延缓果实硬化。

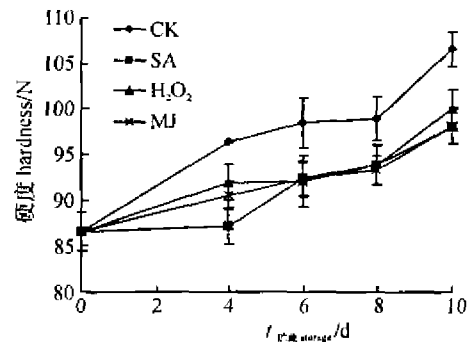


图 1 SA、 H_2O_2 、MJ 处理对 7 °C 下香蕉果实硬度的影响
Fig. 1 The effect of SA, H_2O_2 and MJ on hardness of banana fruits stored at 7 °C

2.3 诱导处理对香蕉果皮颜色的影响

从图 2 可看出, 在香蕉的冷藏过程中, 随着冷藏时间的延长和果实冷害程度的加重, 果皮的 C、L 和 h 值逐渐降低。其中对照果实 C 值下降幅度较大, SA、 H_2O_2 、MJ 处理下降幅度较小。虽然 L、h 值下降比较缓慢, 但 SA、 H_2O_2 、MJ 处理果实的 L、h 值均大于对照。可见, SA、 H_2O_2 、MJ 处理能延缓香蕉果皮 C、L、h

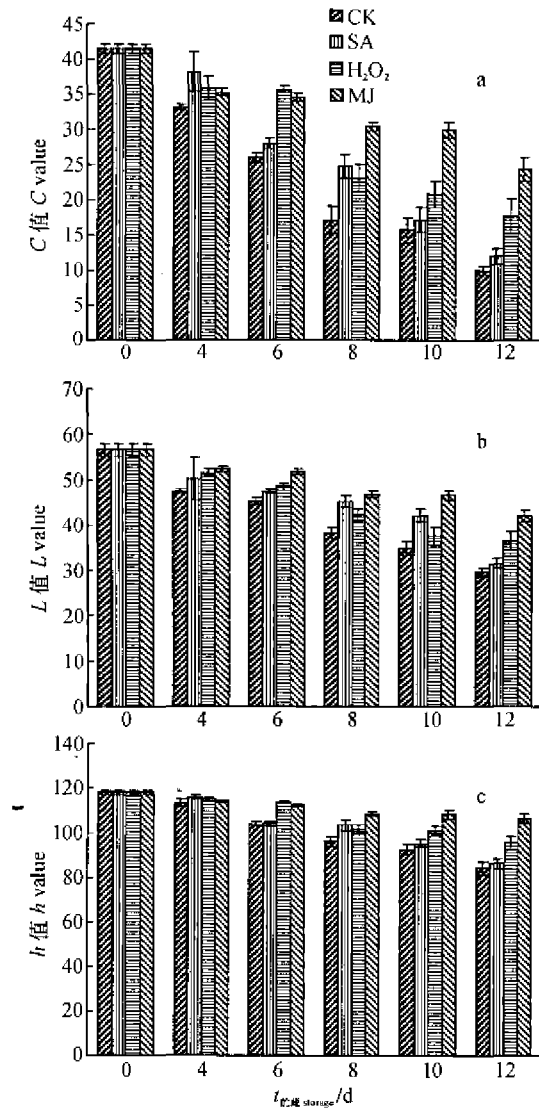


图2 SA、H₂O₂、MJ处理对7℃下香蕉果皮颜色的影响
Fig. 2 The effect of SA, H₂O₂ and MJ on the color of banana peel at 7℃

值的降低。

2.4 诱导处理对香蕉果皮 PPO 酶活性的影响

由图3可看出,4种处理的香蕉果皮PPO活性变化规律是一致的。在第4d时PPO活性显著升高,6d时有所下降,随后保持升高趋势。在低温贮藏期间的前6d,SA、H₂O₂、MJ3种处理的果皮PPO活性一直低于对照,但在贮藏后期没有显著差异。

2.5 诱导处理对香蕉果皮细胞膜透性的影响

从图4可看出,在香蕉冷藏期间,香蕉细胞膜透性逐渐上升。对照果实的果皮相对电导率从第6d开始迅速提高,远远高于SA、H₂O₂、MJ处理,说明SA、H₂O₂、MJ处理有效地抑制了果皮相对电导率的上升,有利于维持细胞膜的完整性与稳定性,从而起到了抗冷的作用。

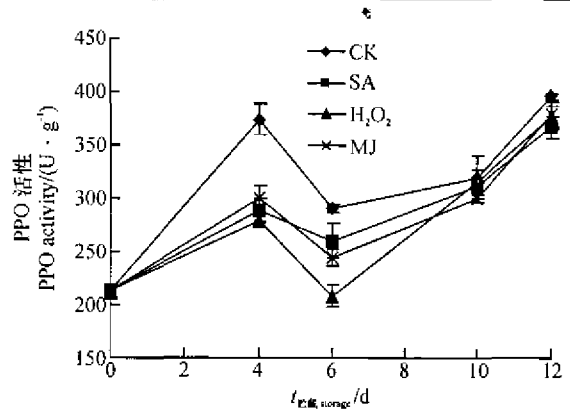


图3 SA、H₂O₂、MJ处理对7℃下香蕉果皮PPO酶活性的影响
Fig. 3 The effect of SA, H₂O₂ and MJ on PPO activity of banana peel at 7℃

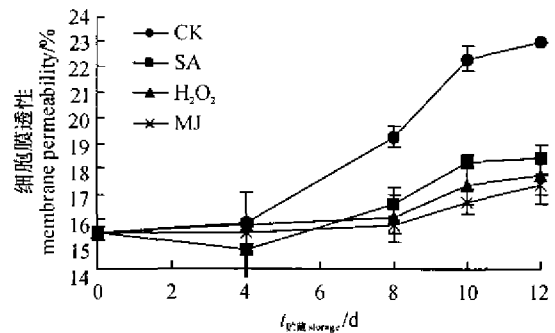


图4 SA、H₂O₂、MJ处理对7℃下香蕉果皮细胞膜透性的影响
Fig. 4 The effect of SA, H₂O₂ and MJ on membrane permeability of banana peel at 7℃

2.6 诱导处理对香蕉果实呼吸速率的影响

由图5可看出,常温下MJ处理24h显著提高了香蕉果实呼吸强度,H₂O₂、SA处理效果不明显。在冷藏3d时,4种处理的香蕉果实呼吸速率均降低,随后果实呼吸速率呈持续上升趋势,到第10d达到高峰后又开始下降。与对照相比,SA、H₂O₂、MJ处理均能抑制香蕉果实呼吸速率的升高,其中MJ处理效果最显著。

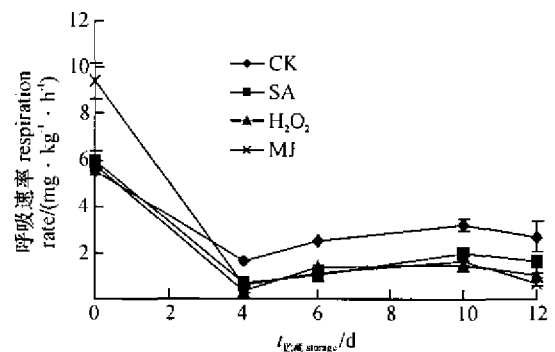


图5 SA、H₂O₂、MJ处理对7℃下香蕉果皮呼吸速率的影响
Fig. 5 The effect of SA, H₂O₂ and MJ on respiration rate of banana peel at 7℃

3 讨论

香蕉等大部分起源于热带亚热带的水果在低温贮藏时易出现冷害. 本试验中 7℃ 下贮藏 3 d 的香蕉果实即表现出轻微冷害症状. 香蕉果实发生冷害时表现出果实硬度提高, 这与芒果^[10]、桃^[11] 和枇杷^[12] 等的结果一致. 冷害果实硬度提高的原因可能是低温抑制了多聚半乳糖醛酸酶的活性, 使细胞壁果胶质不能分解, 同时导致低甲氧基相对分子质量高的果胶质大量积累, 这些积聚的果胶质与钙离子结合后形成凝胶状结构^[11]. 香蕉果实遭受冷害时, 颜色变暗, 严重时变灰绿, 最终变黑^[2], 这是果皮细胞遭受冷害的最直观表现. 由 PPO 催化的酚类物质的氧化被认为是许多果蔬褐变的主要原因. 正常情况下, 植物组织中的 PPO 和底物是区域化分布的^[13]. 香蕉在低温冷害下其膜脂过氧化程度提高, 细胞膜透性增加, 细胞组织结构破坏, 导致酚类物质和 PPO 的区域化被解除. 本试验还发现, 冷害还诱导了 PPO 活性的提高, 从而加速了果皮褐变. 呼吸速率的提高也是植物受到冷害后一个显著的生理变化之一^[2]. 本试验中, 前 4 d 呼吸速率下降可能属于低温贮藏引起的正常反应, 随着冷害的发生发展, 呼吸速率逐渐增强, 这在许多受到冷害的果实上均有报道^[14-15].

综上所述, 冷害症状、硬度、色度、膜透性、呼吸强度都是反映果蔬冷害的重要指标, 本试验表明, 经 SA、MJ 和 H₂O₂ 处理的香蕉果实不同程度上减轻了冷害症状, 延缓了果实硬度和 PPO 活性的提高, 维持了果皮颜色, 延缓了细胞膜透性的提高和抑制了冷害诱导的呼吸强度的提高. 这些结果说明直接采用 H₂O₂ 处理, 或者采用能够激发植物产生内源 H₂O₂ 的 MJ^[4] 和 SA^[5] 等物质处理能提高采后香蕉果实的耐冷性.

近年来 H₂O₂ 作为植物细胞内的一个信号分子越来越受到人们关注^[3]. H₂O₂ 是一种可扩散的小分子, 能够在细胞膜之间穿梭, 具备作为信号分子条件, 在植物体内 O₂⁻ 被 SOD 转化为 H₂O₂. 研究表明, 外源 MJ 和 SA 处理可诱导植物产生 H₂O₂^[4,5], 低浓度的 H₂O₂ 可以激活细胞的抗氧化系统, 提高植物耐冷性^[16-17]. 笔者采用采后香蕉果实作材料, 也发现 MJ 和 SA 能诱导香蕉 H₂O₂ 的提高(数据未列出), 说明 H₂O₂ 可作为信号分子诱导采后果实的抗冷能力, 其诱导机制还有待进一步的探讨.

参考文献:

[1] 王勇, 谢会, 张昭其, 等. 香蕉果实贮藏冷害与 PAL 活性

及可溶性蛋白的关系[J]. 果树学报, 2004, 21(2): 149-152.

[2] 陆旺金, 张昭其, 季作梁. 热带亚热带果蔬低温贮藏冷害及御冷技术[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(2): 158-163.

[3] NEILL S J, DESIKAN R, CLARKE A. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants[J]. Exp Bot, 2002, 53: 1237-1247.

[4] HUNG Kuo-tung, HSU Yi-ting, KAO Ching-tuei. Hydrogen peroxide is involved in methyl jasmonate-induced senescence of rice leaves[J]. Physiologia Plantarum, 2006, 127(2): 293-303.

[5] CHAN Zhu-long, TIAN Shi-ping. Induction of H₂O₂-metabolizing enzymes and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweetcherry fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 39(3): 314-320.

[6] MCGUIRE R C. Reporting of objective color measurements[J]. HortScience, 1992, 27(12): 1254-1255.

[7] 张昭其, 段学武, 庞学群, 等. 冷激对采后香蕉几个与耐热性有关的生理指标的影响[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(4): 333-335.

[8] 段学武, 庞学群, 张昭其, 等. 冷激处理对香蕉高温下生理变化的影响[J]. 热带作物学报, 2002, 23(2): 31-35.

[9] JIANG Ming-yi, ZHANG Jun. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidant defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings[J]. Plant Cell Physiol, 2001, 42: 1265-1273.

[10] 张昭其, 洪汉君, 李雪萍, 等. 间歇升温对芒果冷害及生理生化反应的影响[J]. 园艺学报, 1997, 24(4): 329-333.

[11] 茅林春, 王阳光, 张上隆. 热处理减缓桃果实的采后冷害[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2000, 26(2): 137-140.

[12] 郑永华, 李三玉. SO₂ 对枇杷冷藏效果的影响[J]. 南京农业大学学报, 2000, 23(2): 89-92.

[13] 刘淑贤, 蒋跃民, 陈芳. 荔枝果皮褐变与多酚氧化酶过氧化物酶和酚类物质区域化的关系[J]. 中国科学院华南植物所集刊, 1991(7): 95-98.

[14] 都凤华, 王秀春, 郭菊曼, 等. 李子贮藏温度及冷害的研究[J]. 吉林农业大学学报, 1997, 19(3): 91-96.

[15] 陈发河, 张维一, 吴光斌. 变温处理后甜椒果实对低温胁迫的生理反应[J]. 园艺学报, 1994, 21(4): 351-356.

[16] 王国莉. H₂O₂ 处理对水稻不同耐冷品种幼苗叶绿素荧光参数的影响[J]. 惠州学院学报, 2006, 26(3): 5-10.

[17] KANG Guo-zhang, WANG Zheng-xun, SUN Gu-chou. Participation of H₂O₂ in enhancement of cold chilling by salicylic acid in banana seedlings[J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(5): 567-573.

【责任编辑 柴·焰】