

ABA、GA₃ 处理对冬枣采后果肉活性氧代谢的影响

李红卫¹ 韩 涛¹ 李丽萍¹ 冯双庆² 赵玉梅²

(¹ 北京农学院食品科学系, 北京 102206; ² 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 研究了 100 mg·L⁻¹脱落酸 (ABA) 和 100 μg·L⁻¹赤霉素 (GA₃) 处理对冬枣冷藏期间果肉超氧阴离子自由基生成速率, 丙二醛、过氧化氢含量及相关酶活性变化的影响。结果表明: 低温 (0 ± 2) °C 贮藏条件下, ABA 处理促进了冬枣果肉丙二醛和过氧化氢的积累, 增大了超氧阴离子生成速率, 促进了过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 活性高峰提前出现, 多酚氧化酶 (PPO) 活性的峰高增加, 抗坏血酸氧化酶 (AAO) 活性上升和酚类物质的快速下降, 说明果实后熟衰老被 ABA 处理提前, 而 GA₃ 具有延缓作用, ABA 和 GA₃ 处理对活性氧代谢具有拮抗作用。

关键词: 枣; 冷藏; 脱落酸; 赤霉素; 活性氧

中图分类号: S 665.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 05-0793-05

Effect of ABA and GA₃ Treatments on the Metabolism of Active Oxygen Species in Cold Stored 'Brumal Jujube' Flesh

Li Hongwei¹, Han Tao¹, Li Liping¹, Feng Shuangqing², and Zhao Yumei²

(¹ Department of Food Science, Beijing Agricultural College, Beijing 102206, China; ² College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The changes of active oxygen species in 'Brumal Jujube' flesh treated with 100 mg·L⁻¹ ABA or 100 μg·L⁻¹ GA₃ during cold storage [(0 ± 2) °C, 60 days], including the production rate of superoxide anion, contents of malondialdehyde (MDA) or H₂O₂ and activities of catalase (CAT), peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO) and ascorbic acid oxidase (AAO), were investigated. The results showed that ABA increased the production rate of superoxide anion, promoted the accumulations of MDA and H₂O₂ in 'Brumal Jujube' during storage, the activity peaks of CAT, PPO and POD were advanced, and AAO activity kept increasing, the content of total phenols decreased sharply, all of the parameters above were higher than those in control. They suggested that ABA treatment accelerated the senescence of 'Brumal Jujube' fruit. The effects of ABA on 'Brumal Jujube' fruit were opposite to GA₃.

Key words: Jujube; Storage; ABA; GA₃; Active oxygen species

果实的后熟衰老是一个复杂的生理生化过程, 自由基学说认为衰老过程是活性氧代谢失调与积累的过程^[1]。植物组织的衰老与活性氧的代谢密切相关, 超氧阴离子 (O₂⁻) 是重要的活性氧, 在有氧的条件下, O₂⁻ 被认为是导致细胞损伤和细胞膜中不饱和脂肪酸氧化的关键因子^[2]。O₂ 获得一个电子就可成为 O₂⁻, 在 H⁺ 存在下可转变为 H₂O₂, O₂⁻ 歧化产生 H₂O₂ 也在细胞内进行, 是 H₂O₂ 的一个主要来源, 植物将体内产生的过氧化物尽快转化为无毒和低毒的物质是重要的生理作用。超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 是植物细胞中清除活性氧的主要酶类, SOD 专一催化 O₂⁻ 转变成 H₂O₂ 和 O₂, 保护细胞不受 O₂⁻ 的伤害, 保护细胞膜结构和功能; H₂O₂ 也是一种活性氧, CAT 和 POD 可将 H₂O₂ 转变成 H₂O, 起到解毒作用; SOD、CAT 和 POD 这 3 种酶协调一致, 能维持组织内较低的活性氧水平^[3]。

研究表明, GA₃ 与 ABA 的生理作用在许多方面是相拮抗的。采前 GA₃ 处理可以明显延缓采后梨

收稿日期: 2004 - 11 - 29; 修回日期: 2005 - 04 - 11

枣成熟衰老的进程,抑制枣果肉组织的膜透性增高和抗坏血酸的损失^[4],但采后 GA_3 对枣果作用及活性氧代谢如何未见报道。张有林等^[5,6]曾报道 ABA 对枣果的作用,认为 ABA 处理加快了枣果的衰老,促进了抗坏血酸、原果胶、蔗糖含量的下降,显著降低了鲜果率,说明 ABA 是导致枣果变软衰老的主要因素之一。本研究主要采用 ABA 和 GA_3 处理冬枣,研究其贮藏期间活性氧和清除活性氧酶类的变化情况,以探讨 ABA 和 GA_3 对冬枣果实抗氧化系统的影响。

1 材料与方法

2002年 10月 15日下午在山东滨州裕华冬枣有限公司果园(树龄 5年)人工采摘冬枣果实,放入聚乙烯泡沫箱中,16日早晨运到中国农业大学冷库(0℃),预冷 24 h后,挑选大小一致、无病虫害、无机械伤的白熟果(着色 0%),分别用浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ABA 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 GA_3 进行喷雾处理。每次均匀喷洒后晾干,再喷下 1次,共喷 3次。以喷清水为对照,每个处理 3次重复。处理后的枣果装入厚 0.06 mm、长 45 cm、宽 75 cm 的聚乙烯薄膜袋中,每个重复 1袋,每袋 4 kg,袋口密封,在袋上打 10个孔,孔径为 0.8 cm。在 $(0 \pm 2)^\circ\text{C}$ 条件下贮藏。每隔 10~12 d 从每个处理中随机取 20个果,测定 H_2O_2 含量^[7]、丙二醛(MDA)含量^[8]、总酚含量^[9]、 O_2^- 生成速率^[10]、CAT活性^[11]、多酚氧化酶(PPO)和 POD活性(以每分钟 OD 值变化 0.01 为一个酶活性单位)^[9],以及抗坏血酸氧化酶(AAO)活性^[8]。

2 结果与分析

2.1 O_2^- 生成速率的变化

冬枣贮藏期间, O_2^- 生成速率逐渐升高(图 1),ABA 处理 12 d 后快速增加,整个贮藏期处于最高水平;对照与 GA_3 处理在 24 d 时差异不明显,之后对照上升速度明显快于 GA_3 处理, GA_3 处理增加幅度较小。

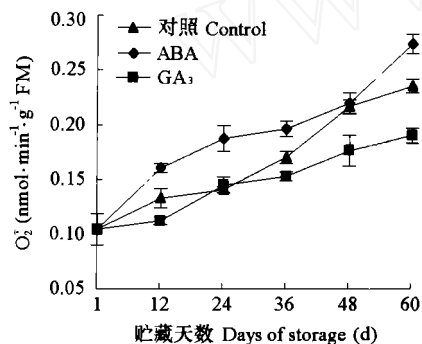


图 1 ABA 和 GA_3 处理对冬枣冷藏期间超氧负离子 O_2^- 产生速率的影响

Fig 1 Effects of ABA and GA_3 on the production rate of superoxide anion O_2^- of cold stored 'Brumal Jujube'

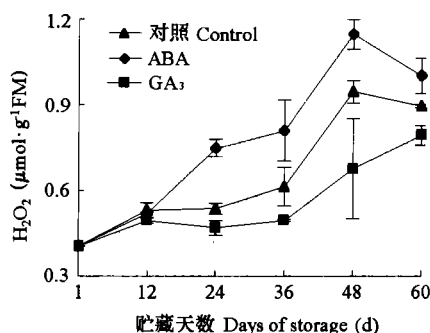


图 2 ABA 和 GA_3 处理对冬枣冷藏期间 H_2O_2 含量的影响

Fig 2 Effects of ABA and GA_3 on H_2O_2 content of cold stored 'Brumal Jujube'

2.2 H_2O_2 含量的变化

冬枣冷藏期间,对照和 GA_3 处理的 H_2O_2 含量在贮藏前期无显著差异(图 2);36 d 后对照的 H_2O_2 含量增加幅度明显高于 GA_3 处理;而 ABA 处理在 12 d 后快速增加,增加幅度一直高于对照和 GA_3 处理,48 d 时达最大,为 $1.13 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$,说明 ABA 促进果实积累了较高的 O_2^- 后,SOD 歧化 O_2^- 产生较多的 H_2O_2 。

2.3 CAT 活性的变化

冬枣冷藏期间,CAT 活性变化有峰值出现(图 3)。ABA 处理在 36 d 时出现峰值,之后开始下

降; 对照在贮藏 36 d 时也达最高值, 但低于 ABA 处理; GA₃ 处理在 48 d 时达到峰值, 比对照延迟。CAT 可以催化 H₂O₂ 形成 H₂O 和 O₂, 清除过氧化氢的毒害。本试验中的 ABA 处理果最先积累了较高的 H₂O₂, 因此也最先激活了高活性的 CAT, 提前了峰值出现的时间; 而 GA₃ 推迟了 CAT 活性的诱导时间, 但激活了较高的 CAT 活性。

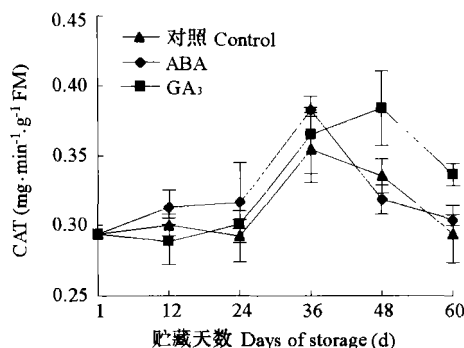


图 3 ABA 和 GA₃ 处理对冬枣冷藏期间过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

Fig. 3 Effects of ABA and GA₃ on the CAT activity of cold stored 'Brumal Jujube'

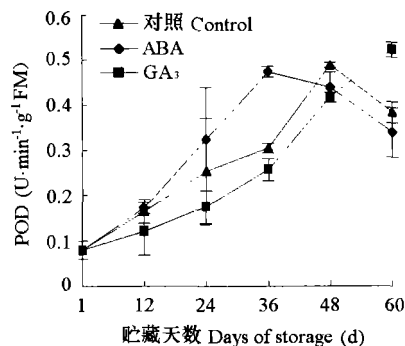


图 4 ABA 和 GA₃ 处理对冬枣冷藏期间过氧化物酶 (POD) 活性的影响

Fig. 4 Effects of ABA and GA₃ on POD activity of cold stored 'Brumal Jujube'

2.4 POD 活性的变化

冬枣冷藏期间的 POD 活性 (图 4)。ABA 处理在 36 d 时出现峰值, 之后降低, 说明 ABA 促进果实积累了较多的 H₂O₂, 激活的 POD 活性峰值最先出现; 对照在 48 d 时出现峰值, 比 ABA 处理推迟了 12 d; GA₃ 处理在贮藏结束时达到最高, 说明 GA₃ 延缓了 POD 活性峰值出现的时间。

2.5 MDA 含量的变化

由图 5 可知, 冬枣冷藏期间 MDA 含量呈逐渐上升趋势, ABA 处理积累迅速, 对照 36 d 后明显高于 GA₃ 处理, 贮藏 60 d 时 ABA 处理达最高, 对照次之, GA₃ 处理最低。ABA 处理产生了较高的 O₂⁻ (图 1), 当 O₂⁻ 产生量积聚超过酶的清除能力时, 膜脂过氧化加剧, 相应地 MDA 剧增, 说明膜系统损伤程度大, 组织细胞衰老加剧, 可见 ABA 促进果实的衰老也表现在 MDA 含量的增加上, GA₃ 延缓了 MDA 的积累, 减缓了膜系统的伤害程度。

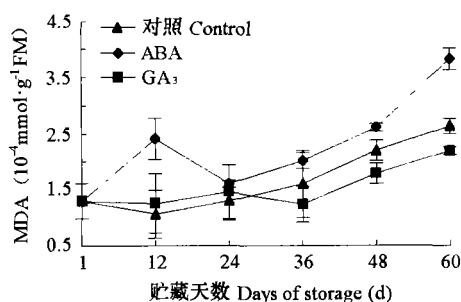


图 5 ABA 和 GA₃ 处理对冬枣冷藏期间丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 5 Effects of ABA and GA₃ on the MDA content of cold stored 'Brumal Jujube'

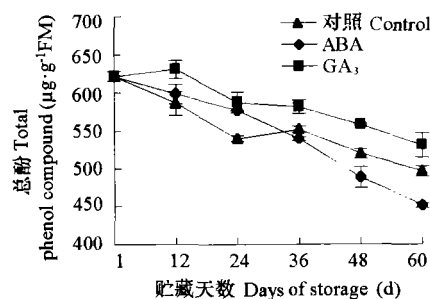


图 6 ABA 和 GA₃ 处理对冬枣冷藏期间果肉中总酚含量的影响

Fig. 6 Effects of ABA and GA₃ on the total phenol content of cold stored 'Brumal Jujube' flesh

2.6 总酚含量的变化

冬枣贮藏期间, 果肉中总酚含量呈逐渐下降趋势 (图 6), 与 Kader 等^[12]的结果一致。ABA 处理促进了总酚含量的快速下降, 而 GA₃ 减小了总酚含量的下降幅度。

2.7 PPO 活性的变化

由图 7 可以看出, 整个贮藏期间, ABA 处理的 PPO 活性上升幅度最大。贮藏 48 d 时 ABA 处理和

对照的 PPO 活性均达到峰值, 分别为 3.85 和 3.14 ($\text{OD } 0.01 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$), 之后下降, 而 GA_3 处理至贮藏结束时, 一直呈上升趋势。PPO 是植物呼吸作用电子传递链中的重要末端氧化酶, 它催化酚类物质变为褐色物质。当果实组织受到损伤或自然衰老时, 大量的 PPO 活性被释放出来, 与底物接触, 表现为 PPO 活性迅速升高并发生褐变。ABA 促进了 PPO 活性的快速增加和峰值升高, 可见也促进了果实的提前褐变, 这与 ABA 促进总酚含量的快速下降相一致。

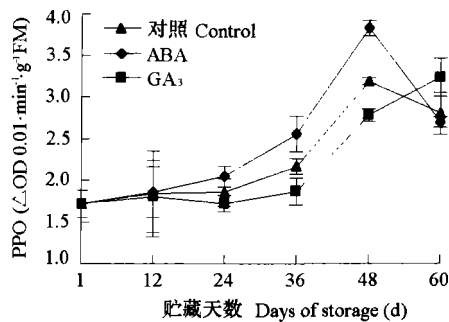


图 7 ABA 和 GA_3 处理对冷藏冬枣期间多酚氧化酶 (PPO) 活性的影响

Fig 7 Effects of ABA and GA_3 on the PPO activity of cold stored 'Brumal Jujube'

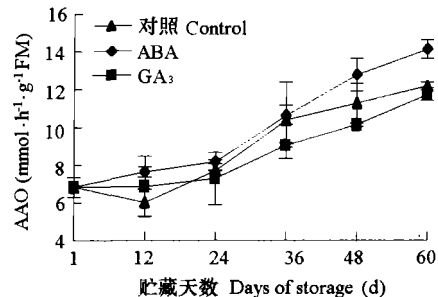


图 8 ABA 和 GA_3 处理对冬枣冷藏抗坏血酸氧化酶 (AAO) 活性的影响

Fig 8 Effects of ABA and GA_3 on AAO activity of cold stored 'Brumal Jujube' flesh

2.8 AAO 活性的变化

冬枣贮藏过程中, AAO 活性总体呈上升趋势 (图 8), 贮藏前期上升缓慢, 到贮藏末期达到最大。AAO 活性是影响抗坏血酸含量的主要酶之一^[4]。ABA 处理的 AAO 活性在整个贮藏期上升速度较快, GA_3 处理上升缓慢, 增加速度低于对照。

3 讨论

果蔬衰老常常被认为与膜脂过氧化对生物膜造成伤害有关。超氧阴离子、 H_2O_2 等活性氧在衰老增加的同时, 伴有 MDA 含量的上升, 即膜脂过氧化加强^[2]。鸭梨^[13, 14]、苹果^[15]、梨枣^[4]衰老时都伴有 MDA 积累, 导致膜透性增大及一系列次生反应。衰老过程中果实 POD 活性增高可能是对 H_2O_2 积累的一种反应。猕猴桃果实采后 POD 活性在成熟前较低, 随着成熟度的提高, 酶活性迅速提高, 至采后 20~25 d 时约提高 3 倍, 而后又逐渐下降。这说明 POD 活性与果实的成熟衰老有着密切相关。关军锋^[15]报道鸭梨采后初期, 果肉的 CAT 活性较低, 中期较高, 末期又降低。另据报道^[14] CAT 在清除 H_2O_2 的毒害中具有重要作用, 组织衰老时 CAT 活性下降, 清除 H_2O_2 的作用也减弱。本试验研究发现, 冬枣在 O₂ 贮藏过程中, O₂⁻ 产生速率、 H_2O_2 和 MDA 的增加与 POD 和 CAT 活性变化密切相关; 随着 O₂⁻ 产生速率提高和 H_2O_2 积累的增多, POD 和 CAT 活性逐渐增加并出现峰值之后下降, 与果实的衰老密切相关。

AAO 是植物中普遍存在的一种含铜氧化酶, 在果实中较多, 是呼吸作用电子传递链中的重要酶, 其主要作用是催化维生素 C 氧化。关军锋^[14]指出, 褐变发生时 AAO 活性达到最高值, 能使 L-抗坏血酸氧化变为氧化型抗坏血酸。本试验发现, 随着贮藏期的延长, 抗坏血酸氧化酶逐渐增加, 说明果实中抗氧化物质维生素 C 降低, 从而促进了果实的衰老; ABA 处理显著促进了 AAO 活性增加, 酚类物质下降也快速; GA_3 延缓了 AAO 的升高, 推测 ABA 促进果实衰老的作用也表现在对酶活性的影响上。

本试验研究表明, 一方面, 本试验浓度的 ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) ABA 处理促进了冬枣果实 O₂⁻、MDA 的快速增加, 提前了 H_2O_2 的出峰时间, 活性氧积累过快过多, 导致膜系统受伤害从而增加了果实的衰老进程; 另一方面, 保护酶系统被激活, CAT、POD 活性快速上升, 提前了出峰时间, 加快了果实衰老, 说明 CAT、POD 活性共同影响枣果的衰老。有报道认为 GA_3 能提高活性氧清除酶类 CAT 活性, 延缓 CAT 活性降低, 延缓果实的衰老; 应用 GA_3 ($30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理保持了枣果较好的硬度, 延缓

了枣果的酒化与褐变^[16]。本试验研究发现, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 GA₃处理对果实衰老有延缓作用, 表现在延缓了 H₂O₂、MDA 和 O₂⁻ 积累, 延缓了组织受活性氧的伤害时间; 另一方面, 保护酶系统激活被推迟, CAT、POD 活性上升缓慢, 延迟了 CAT、POD 峰值出现时间, 最终延迟了果实的衰老进程, 与薛梦林等^[16]报道的 GA₃处理保持果实较好的硬度等指标相吻合。

参考文献:

- 1 陈惠萍. 活性氧与果实后熟. 华南热带农业大学学报, 2000, 6 (4): 14~17
Chen H P. Activated oxygen and fruits ripening. Journal of South China University Tropical of Agriculture, 2000, 6 (4): 14~17 (in Chinese)
- 2 宋纯鹏, 梅慧生. 衰老叶片叶绿体的荧光动力学变化及 6-BA 延缓衰老机理的研究. 北京大学学报 (自然科学版), 1991, 27: 700~706
Song C P, Mei H S. Studies on the changes of kinetics of chlorophyll fluorescence from intact leaves during senescence and the mechanism of inhibiting aging by 6-BA. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis, 1991, 27: 700~706 (in Chinese)
- 3 柯德森, 王爱国, 罗广华. 活性氧在外源乙烯诱导内源乙烯产生过程中的作用. 植物生理学报, 1997, 23 (1): 67~72
Ke D S, Wang A G, Luo G H. The effect of activated oxygen during the production of endogenous ethylene induced by exogenous ethylene. Acta Phytophysiologica Sinica, 1997, 23 (1): 67~72 (in Chinese)
- 4 王如福. 鲜枣耐贮性的影响因素及调控机理研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学, 2002. 117~119
Wang R F. Research of regulatory mechanism of fresh jujube storage of life and affecting factors. [Ph. D. thesis], Beijing: China Agricultural University, 2002. 117~119 (in Chinese)
- 5 张有林, 陈锦屏. 葡萄、鲜枣采后贮期脱落酸变化与呼吸非跃变研究. 西北植物学报, 2002, 22 (5): 1197~1202
Zhang Y L, Chen J P. Studies on the changes of ABA content and respiratory non-climacteric character after harvest in grape and fresh jujube. Acta Bot Boreali Occident Sin, 2002, 22 (5): 1197~1202 (in Chinese)
- 6 张有林, 陈锦屏. 鲜枣贮期脱落酸与品质变化关系的研究. 农业工程学报, 2000, 16 (5): 106~109
Zhang Y L, Chen J P. Studies on the relationship between ABA and the quality changes of fresh jujube during storage. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2000, 16 (5): 106~109 (in Chinese)
- 7 Patterson. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium. Anal Biochem, 1984, 139: 487~492
- 8 汤章城. 现代植物生理试验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 316~317
Tang Z C. Modern plant physiology experiment. Beijing: Science Press, 1999. 316~317 (in Chinese)
- 9 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学试验. 北京: 北京大学出版社, 1990. 37~40
Zhu G L, Zhong H W, Zhang A Q. Plant physiology experiment. Beijing: Beijing University Press, 1990. 37~40 (in Chinese)
- 10 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系. 植物生理学通讯, 1990, (6): 55~57
Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. Plant Physiology Communications, 1990, (6): 55~57 (in Chinese)
- 11 张宪政, 陈凤玉. 植物生理学试验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1994. 94~97, 100~102, 161~165, 184~186
Zhang X Z, Chen F Y. Technology on plant physiology experiment. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1994. 94~97, 100~102, 161~165, 184~186 (in Chinese)
- 12 Kader A A, Yu Li, Alexander C. Postharvest respiration, ethylene production and compositional changes of Chinese jujube fruit. Hort Science, 1982, 17 (4): 678~679
- 13 关军锋. 采后鸭梨衰老与膜脂过氧化物的关系. 沈阳农业大学学报, 1994, 25 (4): 418~421
Guan J F. The relationship between senescence membrane lipid peroxidation of Yali pear after harvest. Journal of Shenyang Agricultural University, 1994, 25 (4): 418~421 (in Chinese)
- 14 关军锋. 采后鸭梨果肉和果心中氧化酶活性与过氧化物含量的变化. 植物生理学通讯, 1994, 30 (2): 91~93
Guan J F. Changes of the activity of oxidative enzyme and the amounts of peroxides in the flesh and core of Yali pears. Plant Physiology Communications, 1994, 30 (2): 91~93 (in Chinese)
- 15 关军锋. 苹果果实衰老与活性氧代谢的关系. 园艺学报, 1996, 23 (4): 326~329
Guan J F. Relationship between senescence and activity of oxygen metabolism in apple fruit. Acta Horticulturae Sinica, 1996, 23 (4): 326~329 (in Chinese)
- 16 薛梦林, 张平, 张继澍, 王莉. '脆枣'采后赤霉素处理对其生理生化的影响. 园艺学报, 2003, 30 (2): 147~151
Xue M L, Zhang P, Zhang J S, Wang L. Effect of postharvest treatment with GA₃ on physiological and biochemical changes of 'Cui Jujube' fruit during cold storage. Acta Horticulturae Sinica, 2003, 30 (2): 147~151 (in Chinese)