

1-甲基环丙烯对番茄冷害的影响

解 静, 罗自生*

(浙江大学食品科技系, 杭州 310029)

摘 要: 为探讨 1-甲基环丙烯 (1-MCP) 处理对番茄果实低温贮藏期间冷害和抗病性的影响, 以绿熟期的‘浙杂 205’番茄为试材, 用 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 1-MCP 在 20°C 下处理番茄果实 6 h, 然后将其置于 3°C 冷藏 14 d 后转入 20°C 后熟 16 d。结果发现, 1-MCP 处理加重了冷藏番茄后熟期间的冷害, 但是延缓了硬度和可滴定酸度的下降, 推迟了番茄红素的增加和乙烯峰的出现, 诱导了多酚氧化酶和过氧化物酶活性, 同时降低了几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶的活性。虽然 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 1-MCP 处理延缓了冷藏番茄果实的后熟, 却加重了番茄后熟期间冷害和病害的发生, 不适合在番茄冷藏中应用。

关键词: 番茄; 贮藏; 1-MCP; 冷害; 抗病性

中图分类号: S 641.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 02-0281-07

Effect of 1-Methylcyclopropene on Chilling Injury of Tomato Fruit

XIE Jing and LUO Zi-sheng*

(Department of Food Science and Technology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: In order to determine the effectiveness of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on chilling injury and disease resistance of tomato fruit after cold storage. Green mature ‘Zheza 205’ tomato fruit was treated by $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 1-MCP before being stored at 3°C for 14 days then ripen at 20°C for 16 days. The quality and physiology of tomato fruit were investigated. 1-MCP treatment not only promoted chilling injury and disease index, but also increased the activities of polyphenol oxidase and peroxidase. 1-MCP treatment retarded the peak of ethylene and the increase of lycopene, maintained higher content of titratable acidity and firmness. The activities of chitinase and β -1,3-glucanase were also inhibited by 1-MCP treatment. This study indicated that $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 1-MCP delayed tomato fruit ripen, but promoted chilling injury and disease incidence, and showed that it could not be considered for commercial use in tomato fruit after cold storage.

Key words: tomato; storage; 1-methylcyclopropene; chilling injury; disease resistance

果实冷害的发生和乙烯密切相关 (Ciardi et al., 1997; Ben-Amor et al., 1999)。1-甲基环丙烯 (1-methylcyclopropene, 1-MCP) 是一种新型的乙烯作用抑制剂, 可与果蔬组织中的乙烯受体发生不可逆结合后阻断乙烯与受体的结合, 阻止或延缓乙烯的生理作用, 因而阻止了许多园艺产品中依赖于乙烯的一些应答反应 (Sisler & Serek, 1997)。

收稿日期: 2010-11-24; 修回日期: 2011-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972060, 31071621)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: luozisheng@zju.edu.cn)

近年来发现, 1-MCP 处理能减轻菠萝 (Selvarajah et al., 2001)、鳄梨 (HersHKovitz et al., 2005) 和甜柿 (张宇 等, 2010) 等果实贮藏期间冷害的发生, 却加重柑橘 (Porat et al., 1999) 和香蕉 (Jiang et al., 2004) 冷害的发生, 而 1-MCP 对 ‘Tahiti’ 莱姆果实 (Kluge et al., 2003) 的冷害无影响。1-MCP 处理对不同果实冷害影响的报道不尽一致, 甚至对不同成熟度的同一种果实的影响也不一致 (杨虎清 等, 2008)。

番茄是典型的呼吸跃变型果实, 对乙烯作用极为敏感。目前国内外关于 1-MCP 对番茄冷害和抗病性的研究很少。本试验旨在探讨 1-MCP 处理对番茄果实冷害和抗病性的影响及其作用机制, 以期 1-MCP 在番茄等冷敏型果实贮藏保鲜方面提供理论和应用依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及其处理

试验果实为绿熟期的 ‘浙杂205’ 番茄, 2008年6月采于杭州市浙江省农业科学院实验农场。采后当天运回实验室。

挑选大小均匀, 成熟度相对一致, 无病虫害、无机械伤的果实随机分为2组, 每组240个。每组分成3个重复小组, 每个重复小组80个果实。一组用于1-MCP的处理, 其浓度在预备试验筛选的基础上选取 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 将果实放入密闭的桶中, 在 20°C 下用1-MCP粉剂 (EthylBlock, 有效成分为 0.14%) 熏蒸6 h。另一组以相同时间空气处理的为对照。

将处理后的番茄果实置于清洁塑料筐中, 于 3°C 冰箱中冷藏14 d, 然后转入 20°C 下后熟16 d, 后熟期间每隔4 d取样测定有关指标。

1.2 测定方法

冷害指数 (Chilling injury index, 简称CII): 观察果实外部伤害 (包括霉变、灰暗、水渍状, 斑点等) 面积与果实总面积的比值 (P), 冷害程度分为5级, 0: 没有损伤; 1级: 轻度损伤 (L) ($P \leq 5\%$); 2级: 中度损伤 (M) ($5\% < P \leq 25\%$); 3级: 严重损伤 (S) ($25\% < P \leq 50\%$); 4级: 非常严重损伤 (V) ($P > 50\%$)。冷害指数按下式计算: $\text{CII} = (1 \times L + 2 \times M + 3 \times S + 4 \times V) / 4 \times T$; 其中L, M, S, V表示不同冷害程度的果实数, T表示处理的总果数。

感病率 (Disease rate) DR (%) = $M/T \times 100$ 。M: 发生病害的果数。

硬度: 用TA-XT2i型质构仪测番茄果实最大直径处果肉硬度, 测试深度为15 mm, 探头直径为5 mm, 取最大值, 每次测10个果实, 取平均值。

乙烯释放量: 用气相色谱仪 (山东鲁南瑞虹化工仪器有限公司SP-6800A型) 测定番茄果实的乙烯释放量。测定条件为: 氢火焰检测器, GDX-502填充柱, 柱温为 80°C , 进样温度为 80°C , 检测器温度为 120°C 。

可滴定酸含量: 采用 GB12293-90 测定。

番茄红素含量: 采用Sadler等 (1990) 的方法加以修改, 称取5.0 g左右样品加入30 mL提取液于研钵中研成匀浆, 将匀浆转入到大的玻璃管中, 然后加入15 mL蒸馏水, 并用手振荡10 s, 静置5 min 等待分层。从上层液体中取2~3 mL在503 nm处测定OD值。番茄红素含量的计算公式为: 番茄红素含量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) = $[(\text{OD}/172) \times 536.9 \times 30] / m$ 。m: 样品质量。

酶的提取和活性测定: 多酚氧化酶、过氧化物酶、几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶的提取和活性测定参照曹建康等 (2007) 的方法。多酚氧化酶活性以每分钟、每克鲜样OD值每变化0.01所需的酶

量为一个酶活单位。过氧化物酶活性以每分钟每克鲜重OD值每变化所需的酶量为一个酶活单位。几丁质酶活性以每秒每克样品分解几丁质产生1 nmol的N-乙酰葡萄糖胺为一个活性单位。B-1,3-葡聚糖酶活性以每秒每克样品分解昆布多糖产生1 nmol葡萄糖为一个活性单位。

数据统计分析采用DPS数据处理系统,在0.05水平进行最小显著差数法(Least significant difference, LSD)测验。用Excel软件作图。

2 结果与分析

2.1 1-MCP对番茄冷害指数和感病率的影响

番茄果实 3°C 下冷藏14 d期间无明显冷害症状,当移到 20°C 下后熟时,冷害症状逐渐表现出来,表现为果皮颜色不均匀,果肉局部褐变或水浸状,果实霉变(尤其果柄部位)和腐烂率增加等。

由图1, A可以看出,随着在 20°C 下后熟时间的增加,果实冷害指数迅速升高,1-MCP处理番茄的冷害指数高于对照,后熟末期对照果实的冷害指数为1-MCP处理组的73%,二者间差异达显著水平($P < 0.05$),这表明1-MCP处理会加重番茄冷害的发生。

由图1, B可以看出,感病率的变化与冷害指数的变化趋势基本一致。冷藏番茄果实随着在 20°C 下后熟时间的增加,果实的感病率急剧上升,1-MCP处理组的感病率高于对照组,后熟16 d时,1-MCP处理组的感病率为对照的2.1倍,二者间差异达显著水平($P < 0.05$),表明1-MCP处理加剧了番茄病害的发生,不适合在冷藏番茄上应用。

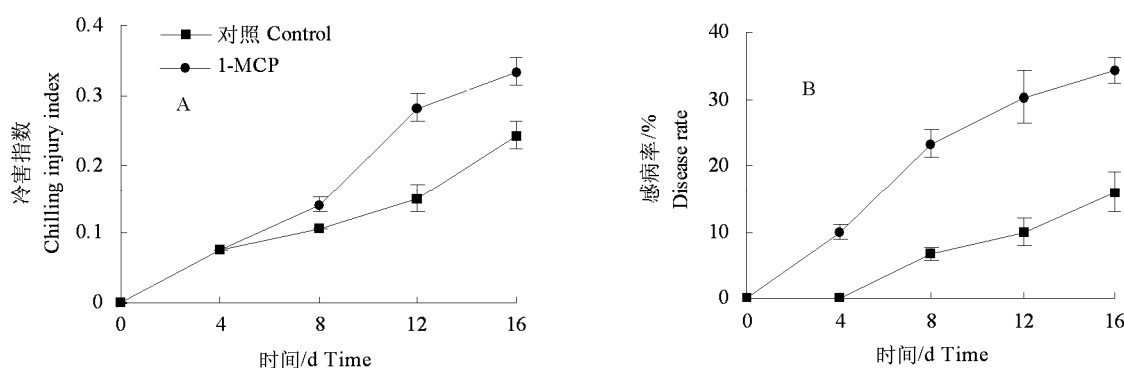


图 1 1-MCP处理对冷藏番茄冷害指数和感病率的影响
Fig. 1 Effects of 1-MCP treatment on chilling injury index and disease rate of tomato after cold storage

2.2 1-MCP对番茄贮藏期可滴定酸和番茄红素含量的影响

番茄果实中的有机酸是其酸味的主要来源,对番茄品质有着重要影响。

由图2, A可以看出,冷藏后番茄果实后熟期间可滴定酸含量持续下降,1-MCP处理延缓了番茄果实后熟期间可滴定酸含量的下降。

冷藏番茄果实后熟期间番茄红素含量都急剧增加(图2, B),对照处理果实后熟8 d时的番茄红素含量为后熟初期的11.8倍($P < 0.05$),之后维持在较稳定的水平;1-MCP处理明显抑制了后熟前期番茄红素的增加,后熟8 d时的番茄红素含量为对照的32%($P < 0.05$),但在后熟末期,对照和处理组的番茄红素含量已无明显差异($P > 0.05$)。

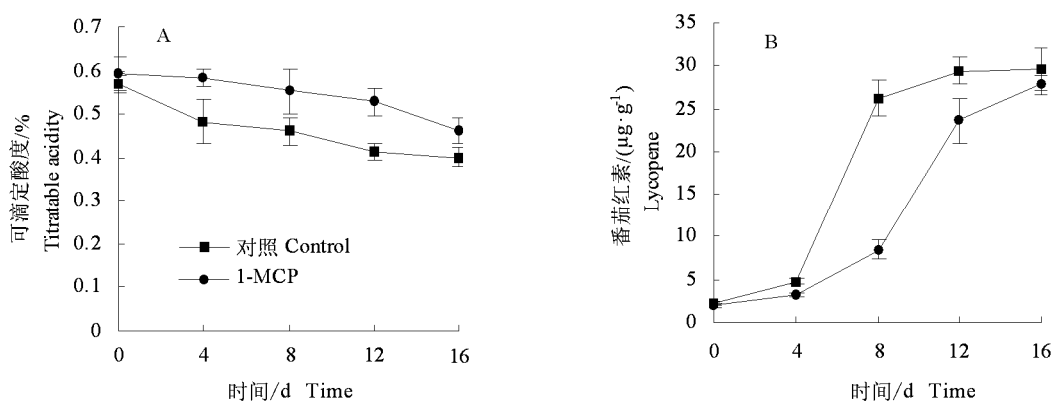


图 2 1-MCP处理对冷藏番茄可滴定酸和番茄红素含量的影响

Fig. 2 Effects of 1-MCP treatment on contents of titratable acidity and lycopene of tomato after cold storage

2.3 1-MCP 对番茄硬度和乙烯释放量的影响

由图3, A可以看出, 冷藏后的番茄果实后熟期间硬度逐渐下降, 后熟16 d时下降了59%; 1-MCP处理延缓后熟期间前8 d番茄硬度的下降 ($P < 0.05$), 之后迅速下降, 到后熟末期与对照已无显著差异 ($P > 0.05$)。

从图3, B可以看出, 冷藏番茄果实后熟期间乙烯释放量均呈现先升高后下降的峰型变化。对照组番茄的乙烯释放量在后熟8 d时达到最大值, 随后缓慢地下降, 而1-MCP处理的番茄在后熟12 d才达到最大值, 说明1-MCP推迟了番茄乙烯峰的出现。

值得注意的是, 1-MCP处理虽然延缓了乙烯峰值的出现, 但却增加了乙烯峰值, 1-MCP处理组的乙烯峰值比对照组高9% ($P < 0.05$), 这在 ‘Ettinger’ 鳄梨上 (HersHKovitz et al., 2005) 也有类似的报道。

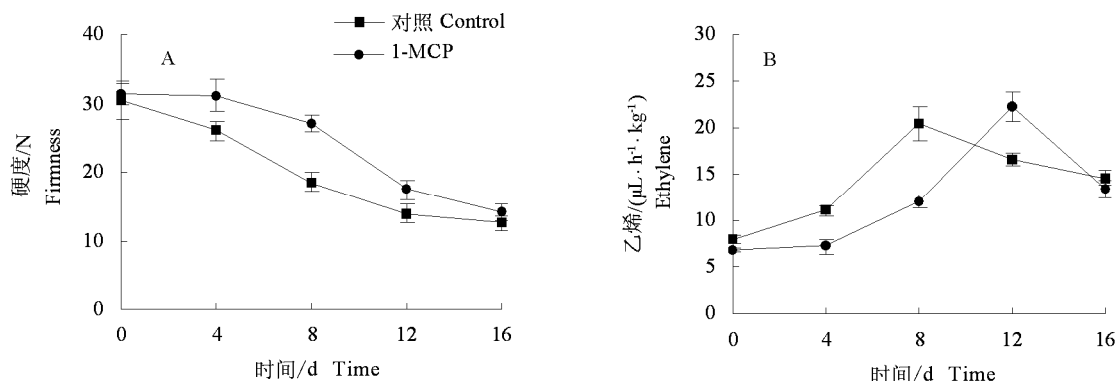


图 3 1-MCP处理对冷藏番茄果实硬度和乙烯释放量的影响

Fig. 3 Effects of 1-MCP treatment on firmness and ethylene production of tomato after cold storage

2.4 1-MCP 对番茄多酚氧化酶和过氧化物酶活性的影响

由图4, A可以看出, 冷藏番茄果实在20 °C下后熟期间多酚氧化酶活性先升高后降低, 后熟12 d时, 对照果实多酚氧化酶活性达到最大值, 1-MCP处理不仅提早了多酚氧化酶活性峰值出现, 而且促进了峰值, 是对照组的2.37倍 ($P < 0.05$)。

由图4, B可以看出, 过氧化物酶活性的变化趋势与多酚氧化酶活性峰型变化类似, 后熟8 d

时对照和1-MCP处理同期达到最大值, 但1-MCP处理组果实的过氧化物酶活性始终显著高于同期的对照果实过氧化物酶活性 ($P < 0.05$), 表明1-MCP处理增加了番茄果实的过氧化物酶活性, Reuck等 (2009) 也发现, $0.5 \sim 1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的1-MCP处理也增加了荔枝多酚氧化酶和过氧化物酶的活性。

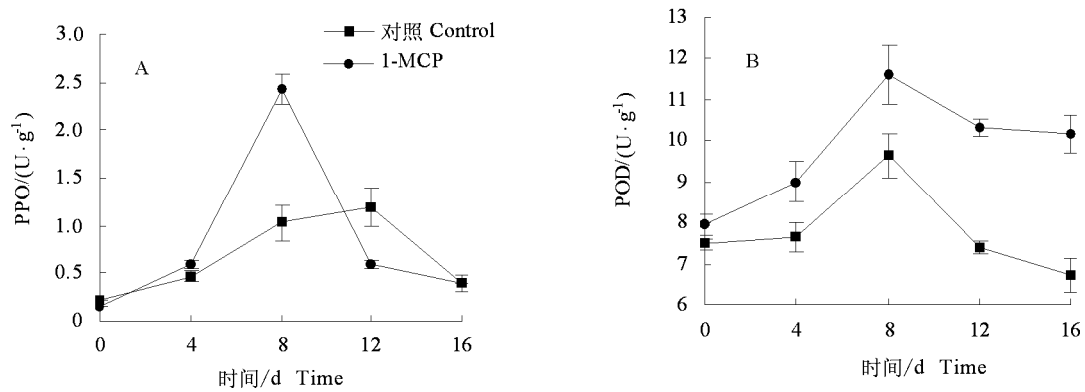


图 4 1-MCP处理对番茄多酚氧化酶 (PPO) 和过氧化物酶 (POD) 活性的影响

Fig. 4 Effects of 1-MCP treatment on activities of polyphenol oxidase and peroxidase of tomato after cold storage

2.5 1-MCP 对番茄几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响

由图5, A可知, 冷藏番茄果实后熟期间几丁质酶活性迅速上升, 而1-MCP处理抑制了几丁质酶活性的增加, 后熟16 d时, 1-MCP处理组果实的几丁质酶活性仅为对照组的56%, 二者间差异达显著水平 ($P < 0.05$)。

冷藏番茄后熟期间 β -1,3-葡聚糖活性呈先上升后下降的变化趋势 (图5, B), 后熟8 d时对照组番茄和1-MCP处理的番茄 β -1,3-葡聚糖活性同时达到最大值, 但对照组的峰值是1-MCP处理组的1.3倍。

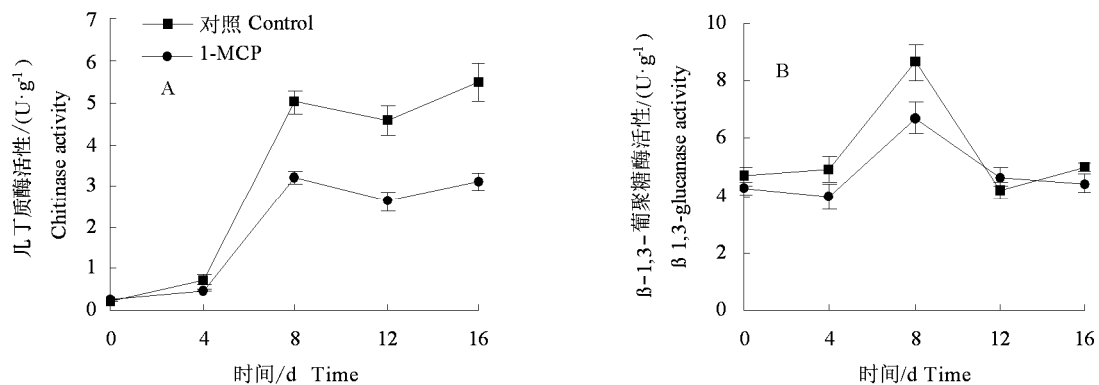


图 5 1-MCP处理对冷藏番茄几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响

Fig. 5 Effects of 1-MCP treatment on activities of chitinase and β -1,3-glucanase of tomato after cold storage

3 讨论

冷害是植物在零上低温贮藏时发生的一种生理病害, 番茄是一种冷敏型的呼吸跃变型果实, 其冷害的发生和乙烯密切相关 (Ciardi et al., 1997)。1-MCP是一种乙烯作用抑制剂, 能有效地抑制

植物对内源或外源乙烯的敏感性 (Sisler & Serek, 1997)。1-MCP对采后冷害的影响因物种或品种不同而异, 1-MCP处理可加重 ‘Shamouti’ 柑橘冷害的发生 (Porat et al., 1999), 但却抑制 ‘Nova’ 和 ‘Ortanique’ 柑橘冷害的发生 (Salvador et al., 2006), 而1-MCP对 ‘Tahiti’ 莱姆果实的冷害无影响 (Kluge et al., 2003)。本研究中发现 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的1-MCP处理加重冷藏番茄冷害的发生。1-MCP对同一品种不同成熟度的果实的冷害影响不同, 杨虎清等 (2008) 报道, 1-MCP处理加剧了桃果实转白期冷害的发生程度, 而对成熟期桃果实的冷害没有显著影响。上述结果表明, 乙烯及其受体抑制剂1-MCP和果实的冷害密切相关, 但其调控机理非常复杂。

果蔬受到低温伤害时, 细胞膜系统损伤, 引起酶与底物接触而导致组织褐变 (Paliyath & Droillard, 1992)。多酚氧化酶和过氧化物酶是催化酶促褐变反应的主要酶类, 多酚氧化酶在有氧的条件下催化酚形成醌; 过氧化物酶在 H_2O_2 存在条件下能迅速氧化多酚物质, 从而引起褐变 (Mayer, 1987; Boonsiri et al., 2007)。本研究中发现, 冷藏番茄后熟期间多酚氧化酶和过氧化物酶活性先增加后减小, 促进果实的褐变。Stewart等 (2001) 发现冷害菠萝多酚氧化酶活性的增加与诱导多酚氧化酶mRNA大量表达密切相关。1-MCP处理抑制了鳄梨 (Herskovitza et al., 2005) 多酚氧化酶和过氧化物酶的活性。本研究中发现 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的1-MCP处理却促进了番茄多酚氧化酶和过氧化物酶活性的增加, 促进果实的褐变。Zoffoli 等 (2002) 则发现, $0.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ 1-MCP处理可显著减少 ‘September sun’ 桃果肉褐变, 而 $1.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ 处理则显著增加其褐变。因此认为, 1-MCP对果实褐变的调控可能与1-MCP处理的浓度有关。有关降低番茄多酚氧化酶和过氧化物酶活性、抑制番茄果实褐变的有效1-MCP处理浓度及其作用机理需要进一步研究。

几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶等病程相关蛋白与植物抗病性有密切关系。当植物在遭到病菌侵染时, 常常是通过植物体内几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性的提高来增强细胞壁的保卫反应, 从而起到抗病的作用 (Veronese et al., 2003; Edreva, 2005)。提高番茄几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶mRNA的表达丰度, 也可以提高果实对冷害低温的忍受能力 (Ding et al., 2002)。Kesari等 (2010) 研究发现, 1-MCP处理抑制了香蕉病程相关蛋白MaPR1a基因的表达。本研究中也发现 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的1-MCP处理抑制了冷藏番茄几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性, 加剧了果实的病害发生几率, 表明1-MCP处理使番茄对病害的抵抗力减弱。李娜 (2006) 则发现1-MCP处理虽然促进杨梅果实的腐烂, 但对杨梅果实的几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性无显著影响。Porat等 (1999) 和Jiang等 (2004) 认为, 适当浓度的乙烯在果实对病原菌的抗性中起到一定的作用, 而1-MCP可能阻碍了机体防御病害侵染正常所需的对乙烯的响应, 使得果实对病菌更为敏感, 导致感病指数增加。

本研究中发现, 虽然 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的1-MCP处理对改善番茄的一些品质有着积极的作用, 如延缓果实硬度和可滴定酸含量的降低, 推迟番茄红素含量的增加和乙烯峰的出现。但 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的1-MCP处理却加剧了冷藏番茄冷害和病害的发生, 提高酶促褐变的进程, 表明 $1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的1-MCP处理对冷藏番茄贮藏也有不利的一面。

References

- Ben-Amor M, Flores B, Latché A, Bouzayen J C, Pech F, Fomjaro. 1999. Inhibition of ethylene biosynthesis by antisense ACC oxidase RNA prevents chilling injury in Charentais cantaloupe melons. *Plant Cell Environment*, 22: 1579 - 1586.
- Boonsiri K, Ketsa S, van Doorn W G. 2007. Seed browning of hot peppers during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 358 - 365.
- Cao Jian-kang, Jiang Wei-bo, Zhao Yu-mei. 2007. Experiment guidance of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables. Beijing: China Light Industry Press: 101 - 105, 142 - 144. (in Chinese)
- 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 2007. 果蔬采后生理生化实验指导. 北京: 中国轻工业出版社: 101 - 105, 142 - 144.

- Ciardi J A, Deikman J, Orzolek M D. 1997. Increased ethylene synthesis enhances chilling tolerance in tomato. *Physiology Plant*, 101: 333 - 340.
- Ding C K, Wang C Y, Gross K C, Smith D L. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta*, 214: 895 - 901.
- Edreva A. 2005. Pathogenesis-related proteins: Research progress in the last 15 years. *General and Applied Plant Physiology*, 31: 105 - 124.
- Hershkovitz V, Saguy S I, Pesis E. 2005. Postharvest application of 1-MCP to improve the quality of various avocado cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 37: 252 - 264.
- Jiang Y M, Joyce D C, Jiang W B, Lu W J. 2004. Effects of chilling temperatures on ethylene binding by banana fruit. *Plant Growth Regulation*, 43: 109 - 115.
- Kesari R, Trivedi P K, Nath P. 2010. Gene expression of pathogenesis-related protein during banana ripening and after treatment with 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology*, 56: 64 - 70.
- Kluge R A, Jomori M L L, Jacomino A P, Vitti M C D, Padula M. 2003. Intermittent warming in 'Tahiti' lime treated with an ethylene inhibitor. *Postharvest Biology and Technology*, 29: 195 - 203.
- Li Na. 2006. Effect of 1-MCP and MeJA on quality and disease resistance in Chinese bayberry fruit[M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University: 29 - 31. (in Chinese)
- 李 娜. 2006. 1-MCP 和 MeJA 对杨梅果实采后品质和抗病性的影响[硕士论文]. 南京: 南京农业大学: 29 - 31.
- Mayer A M. 1987. Polyphenol oxidase and peroxidase in plants recent progress. *Phytochemistry*, 26: 11 - 20.
- Paliyath G, Droillard M J. 1992. The mechanism of membrane deterioration and disassembly during senescence. *Plant Physiology and Biochemistry*, 30: 789 - 812.
- Porat R, Weiss B, Cohen L, Daus A, Goren R, Droby S. 1999. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of 'Shamouti' oranges. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 155 - 163.
- Reuck K D, Sivakumar D, Korsten L. 2009. Integrated application of 1-methylcyclopropene and modified atmosphere packaging to improve quality retention of litchi cultivars during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 52: 71 - 77.
- Sadler G, Davis J, Dezman D. 1990. Rapid extraction of lycopene and β -carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *Journal Food Science*, 55: 1460 - 1465.
- Salvador A, Carvalho C P, Monterde A, Martinez-Jávega J M. 2006. 1-MCP effect on chilling injury development in 'Nova' and 'Ortanique' mandarins. *Food Science and Technology International*, 12: 165 - 170.
- Selvarajah S, Bauchot A D, John P. 2001. Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 23: 167 - 170.
- Sisler E C, Serek M. 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptors level: Recent developments. *Physiology Plant*, 100: 577 - 582.
- Stewart R J, Sawyer B J B, Bucheli C S, Robinson S P. 2001. Polyphenol oxidase is induced by chilling and wounding in pineapple. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28: 181 - 191.
- Veronese P, Ruiz M T, Coca M A, Hernandez-Lopez A, Damsz B, Narasimhan M L. 2003. In defense against pathogens. Both plants sentinels and foot soldiers need to know the enemy. *Plant Physiology*, 131: 1580 - 1590.
- Yang Hu-qing, Wang Yun-xiang, Pang Lin-jiang. 2008. Effect of 1-MCP on the fruit chilling injury of Baifeng peach cultivar during storage. *Journal of Fruit Science*, 25 (1): 111 - 114. (in Chinese)
- 杨虎清, 王允祥, 庞林江. 2008. 1-MCP 对不同成熟度白凤桃冷害发生的影响. *果树学报*, 25 (1): 111-114.
- Zhang Yu, Rao Jing-ping, Sun Yun-jing, Li Shan-shan. 2010. Reduction of chilling injury in sweet persimmon fruit by 1-MCP. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (4): 547 - 552. (in Chinese)
- 张 宇, 饶景萍, 孙允静, 李珊珊. 2010. 1-甲基环丙烯对甜柿贮藏中冷害的控制作用. *园艺学报*, 37 (4): 547 - 552.
- Zoffoli J P, Balbontin S, Rodriguez J, Retamales J, Defilippi B. 2002. Effectiveness of 1-MCP on postharvest deterioration of nectarines and peaches stored at different temperatures. *Acta Horticulturae*, 592: 567 - 570.