

MeJA 与低温预贮对枇杷冷害和活性氧代谢的影响

金 鹏¹, 吕慕雯¹, 孙萃萃¹, 郑永华^{1,*}, 孙 明²

(¹南京农业大学食品科技学院, 南京 210095; ²南京化工职业技术学院自动控制系, 南京 210048)

摘 要: 研究了低温预贮 (10 °C 6 d) 结合茉莉酸甲酯 (MeJA 10 μmol · L⁻¹) 处理对‘解放钟’枇杷果实冷害和活性氧代谢的影响。发现低温预贮与 MeJA 结合处理, 能够有效降低冷藏枇杷的冷害指数, 抑制果实硬度的上升和出汁率的下降; 此外, 显著减少枇杷果实中丙二醛 (MDA) 的积累并抑制细胞膜透性的升高, 维持超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (AsA-POD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-POD) 较高的活性, 并降低超氧阴离子 (O₂⁻) 生成速率和过氧化氢 (H₂O₂) 含量。结果表明, 低温预贮与 MeJA 结合处理可以维持枇杷果实活性氧代谢平衡, 延缓膜脂过氧化进程, 从而减轻枇杷在冷藏过程中的冷害症状, 延长果实贮藏寿命。

关键词: 枇杷; 果实; 低温预贮; 茉莉酸甲酯; 活性氧; 冷害

中图分类号: S 667.3

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 03-0461-08

Effects of Methyl Jasmonate in Combination with Low Temperature Conditioning on Chilling Injury and Active Oxygen Metabolism in Loquat Fruits

JIN Peng¹, Lü Mu-wen¹, SUN Cui-cui¹, ZHENG Yong-hua^{1,*}, and SUN Ming²

(¹College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Department of Automatic Control, Nanjing College of Chemical Technology, Nanjing 210048, China)

Abstract: The effects of a combination of methyl jasmonate treatment and low temperature conditioning on chilling injury and active oxygen metabolism in loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl. ‘Jiefangzhong’) during cold storage were investigated. The combined treatment significantly reduced flesh browning index, prevented the increase of flesh firmness and decrease of extractable juice, and inhibited the accumulation of malonaldehyde (MDA) and the increase in membrane permeability. Moreover, the combined treatment maintained high activities of antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (AsA-POD) and glutathione peroxidase (GSH-POD), and kept low levels of superoxide radicals (O₂⁻) production rate and hydrogen peroxide (H₂O₂) content. These results suggest that a combination of methyl jasmonate and low temperature conditioning treatment may maintain the balance between the formation and detoxification of active

收稿日期: 2011 - 10 - 20; **修回日期:** 2011 - 12 - 27

基金项目: 国家公益性行业专项 (201003073); 国家自然科学基金项目 (31071616); 南京农业大学青年科技创新基金项目 (KJ09020); 南京农业大学 SRT 计划项目 (1008A10)

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

oxygen species and delay the lipid peroxidation process, thereby preventing the development of chilling injury and prolonged the storage period and shelf life of cold-stored loquat fruits.

Key words: loquat; fruit; low temperature conditioning; methyl jasmonate; active oxygen; chilling injury

枇杷 (*Eriobotrya japonica* Lindl.) 果实成熟于初夏高温多雨时节, 采后常温贮藏极易腐烂变质。低温贮藏可减少枇杷果实采后腐烂, 延长贮藏寿命, 但在冷藏过程中极易发生果肉褐变、木质化等冷害症状 (郑永华 等, 1993)。因此, 如何控制枇杷果实采后冷害发生, 是贮藏中迫切需要解决的关键问题。

低温预贮 (low temperature conditioning, LTC) 是指将果蔬等产品放在略高于冷害临界温度下预贮一段时间, 从而减轻后续冷藏期间冷害发生的一种温度调控方法 (Wang, 1993)。已有研究表明, 适宜的 LTC 处理可有效减轻桃 (Jin et al., 2009) 和鳄梨 (Woolf et al., 2003) 的冷害症状, 保持较好的品质。由于 LTC 处理具有安全无污染、操作简便等特点, 越来越受到果蔬贮藏保鲜领域的重视。

茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA) 是植物中天然存在的生长调节因子, 在调节植物逆境胁迫和生长发育过程中起重要作用。近年有研究表明, MeJA 处理可以有效减轻桃 (冯磊 等, 2003)、香蕉 (王海波 等, 2008)、番石榴 (González-Aguilar et al., 2004)、甜椒 (Fung et al., 2004) 和黄瓜 (韩晋和田世平, 2006) 等冷敏性果蔬低温贮藏冷害的发生, 延长贮藏寿命。

虽然已有单独 LTC 或 MeJA 处理控制枇杷冷害的相关研究 (Cao et al., 2009), 但是将两种处理方法结合控制枇杷采后冷害还未见报道。

作者研究了 LTC 结合 MeJA 处理对冷藏枇杷果实冷害和活性氧代谢的影响, 以期提出新的高效安全的枇杷采后保鲜技术。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

以‘解放钟’枇杷 (*Eriobotrya japonica* Lindl. ‘Jiefangzhong’) 果实为材料, 于 2011 年 6 月采收于福建莆田市果园, 当天运回南京实验室。选择大小、成熟度基本相同, 无病虫害, 无机械伤害的果实。

在 2010 年试验中, 采用相应曲面法对枇杷果实 LTC 和 MeJA 结合处理条件优化, 发现在 10 °C 下预贮 6 d 结合 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 处理条件下对减缓果实冷害和保持品质效果最佳, 因此 2011 年选择该处理条件进行试验。将挑选出的果实随机分为 4 组进行处理。

(1) 对照组, 枇杷果实直接放置 (1 \pm 1) °C 下贮藏 35 d。

(2) LTC 组, 枇杷果实置于 10 °C 下贮藏 6 d, 而后转入 (1 \pm 1) °C 下继续贮藏 29 d, 总共贮藏 35 d。

(3) MeJA 处理组: 枇杷果实采用 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 在常温下 (25 °C) 熏蒸处理 1 d, 而后转入 (1 \pm 1) °C 下继续贮藏 34 d, 总共贮藏 35 d。

(4) MeJA 与 LTC 结合处理组: 枇杷果实采用 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 在 10 °C 下熏蒸处理 6 d, 而后转入 (1 \pm 1) °C 下继续贮藏 29 d, 总共贮藏 35 d。

处理结束后果实用 0.01 mm 厚聚乙烯塑料袋分装, 每袋 1 kg 左右, 袋口用普通橡皮筋绕两道,

在 $(1 \pm 1)^\circ\text{C}$, 相对湿度 90% 下总共贮藏 35 d。果实入贮后 (包括处理时间) 每隔 7 d 取样进行分析测定。数据应用 SPSS 11.0 统计软件进行方差分析, 差异显著性测定采用邓肯氏多重比较法。

1.2 果实褐变指数的测定

取 15 个果实, 将果实按果肉褐变程度分为 5 级: 0 级, 无褐变; 1 级, 轻微褐变 (褐变面积 $< 5\%$); 2 级, 轻度褐变 (褐变面积 $5\% \sim 25\%$); 3 级, 中度褐变 (褐变面积 $25\% \sim 50\%$); 4 级, 重度褐变 (褐变面积 $> 50\%$)。按照下面公式计算褐变指数: 褐变指数 $= [\sum (\text{褐变级别} \times \text{该级别中果实个数}) / (4 \times \text{测定果实个数})] \times 100$ 。

1.3 果肉硬度和出汁率的测定

用 TA-XT2i 型质构仪测果实去皮果肉硬度, 下压距离为 5 mm, 探头直径为 5 mm, 取最大值, 每次测定用 15 个果实, 取平均值。

果肉出汁率测定参照芮怀瑾等 (2009) 的方法, 将果实去皮去核后用直径 6 mm 打孔器取肉柱, 切成薄厚均匀的片状, 从中取出 6 片放入已经称质量的塞有吸水纸的离心管 (W_1) 中, 并称质量 (W_2), $5\,000 \times g$ 离心 10 min 后取出果肉并称质量 (W_3)。按照下面公式计算果肉出汁率: 果肉出汁率 (%) $= (W_3 - W_1) / (W_2 - W_1) \times 100$ 。

1.4 细胞膜渗透率和丙二醛 (MDA) 含量测定

细胞膜渗透率参照芮怀瑾等 (2009) 的方法测定。MDA 参照赵世杰和李德全 (1999) 的方法进行测定, 结果以 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 表示。

1.5 SOD、CAT、AsA-POD 和 GSH-POD 活性的测定

SOD、CAT 和 AsA-POD 参照芮怀瑾等 (2009) 的方法进行测定, 结果以 $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白表示。

GSH-POD 的测定参照 Tappel (1978) 的方法进行, 结果以 $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 表示。

1.6 超氧自由基阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 生成速率和过氧化氢 (H_2O_2) 含量的测定

$\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成速率和 H_2O_2 含量参照芮怀瑾等 (2009) 的方法进行测定, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成速率结果以 $[\text{N O}_2^{\cdot-}] \text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 表示, H_2O_2 含量结果以 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 表示。

1.7 蛋白质含量测定

参照 Bradford (1976) 的方法进行测定, 以牛血清蛋白作标准。

2 结果与分析

2.1 MeJA 结合 LTC 处理对果实褐变指数的影响

MeJA 结合 LTC 处理可有效减少枇杷果实褐变的发生。

如图 1 所示, 枇杷果实在 1°C 贮藏 21 d 后开始出现果肉褐变, 随后褐变指数不断上升。LTC 或 MeJA 单独处理均显著 ($P < 0.05$) 抑制褐变指数的上升, 而 LTC 和 MeJA 结合处理的效果更为明显。

贮藏 35 d 后, MeJA 结合 LTC 处理的果实褐变指数比对照果实低 41.3%, 比 LTC 单独处理低 21.9%。

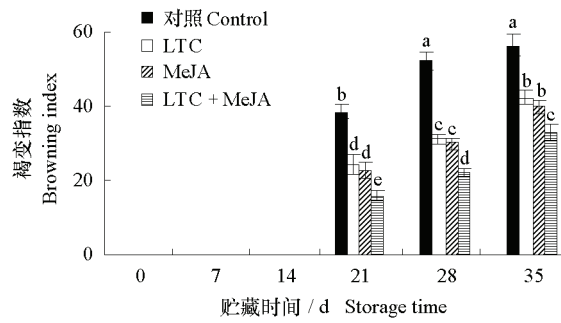


图 1 MeJA 结合 LTC 对枇杷果肉褐变指数的影响

Fig. 1 Effects of MeJA combined with LTC on flesh browning index in cold-stored loquat fruit

2.2 MeJA 结合 LTC 处理对果实硬度和出汁率的影响

果肉硬度和出汁率是反映枇杷果实木质化程度的两个重要指标。

如图 2 所示, 枇杷果实在冷藏期间果肉硬度呈逐渐上升趋势, 果肉出汁率不断下降。LTC 处理可抑制果肉硬度的上升, 并且 MeJA 增强了 LTC 处理的作用效果。

在 1 °C 贮藏 35 d 后 LTC 单独处理和 MeJA 结合 LTC 处理果实硬度分别比对照果实低 27.1% 和 39.2% (图 2, A)。

此外, MeJA 结合 LTC 处理显著 ($P < 0.05$) 抑制了枇杷果肉出汁率的下降, 在 1 °C 贮藏 35 d 后结合处理果实出汁率分别比 LTC 单独处理和对照果实高 9.1% 和 21.6% (图 2, B)。

这说明 MeJA 结合 LTC 处理有效地控制枇杷果实采后木质化的发生, 保持了较好的品质。

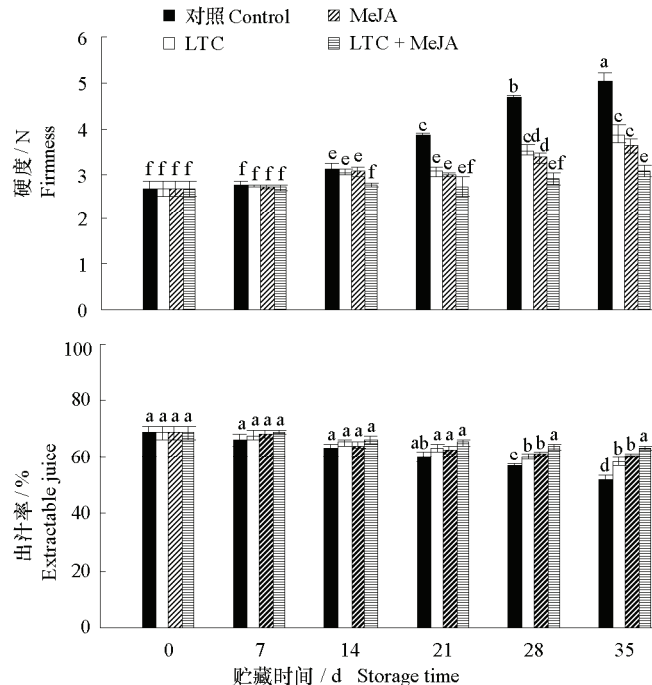


图 2 MeJA 结合 LTC 处理对枇杷果肉硬度和出汁率的影响

Fig. 2 Effects of MeJA combined with LTC on firmness and extractable juice in cold-stored loquat fruit

2.3 MeJA 结合 LTC 处理对细胞膜透率和 MDA 含量的影响

如图 3 所示, 枇杷果实在冷藏期间细胞膜透率和 MDA 含量不断上升, LTC 和 MeJA 单独处理均显著 ($P < 0.05$) 抑制了细胞膜透率和 MDA 的上升, 并且结合处理效果更为明显。贮藏 35 d 后, MeJA 结合 LTC 处理果实细胞膜透率比对照果实低 22.2%, MDA 含量比对照果实低 22.6%。细胞膜透率和 MDA 含量可反映果实贮藏期间细胞膜的完整性, 结合处理可以有效减少枇杷果实冷藏期间细胞膜的伤害, 并保持其完整性, 这对控制冷害的发生起到了积极的作用。

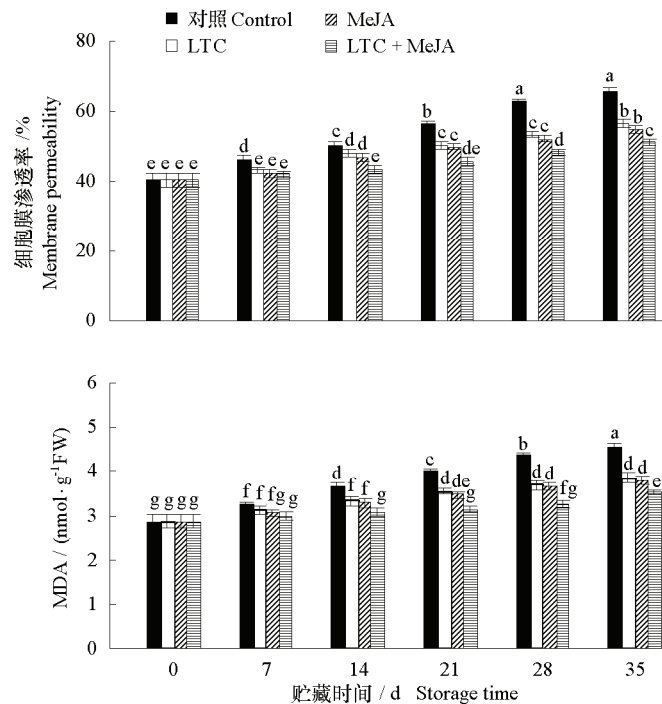


图 3 MeJA 结合 LTC 处理对枇杷果实细胞膜透率和 MDA 含量的影响
Fig. 3 Effects of MeJA combined with LTC on membrane permeability and MDA content in cold-stored loquat fruit

2.4 MeJA 结合 LTC 处理对 SOD、CAT、AsA-POD 和 GSH-POD 活性的影响

如图 4 所示, 枇杷果实在冷藏期间抗氧化酶活性 (SOD、CAT、AsA-POD 和 GSH-POD) 逐渐下降。

LTC 和 MeJA 单独处理都抑制了 4 种抗氧化酶的下降, 并且二者结合处理的抑制效果更为明显。在贮藏 35 d 后, MeJA 结合 LTC 处理果实中 SOD、CAT、AsA-POD 和 GSH-POD 活性均显著 ($P < 0.05$) 高于对照及 LTC 和 MeJA 单独处理。

这说明结合处理提高了枇杷果实的抗氧化酶体系, 有利于维持果实中活性氧代谢的平衡。

2.5 MeJA 结合 LTC 处理对 O_2^- 生成速率和 H_2O_2 含量的影响

如图 5 所示, 枇杷果实冷藏期间超氧阴离子自由基 (O_2^-) 生成速率和过氧化氢 (H_2O_2) 含量随着贮藏期延长而不断升高。

LTC 处理明显抑制了 O_2^- 和 H_2O_2 的上升, 并且 MeJA 增强了 LTC 处理的作用效果。枇杷果实冷藏 35 d 后, MeJA 结合 LTC 处理果实 O_2^- 生成速率比对照果实低 31.6%, H_2O_2 含量比对照果实低 29.1%。这说明结合处理保持枇杷果实较高的抗氧化酶活性, 提高了对活性氧的清除能力。

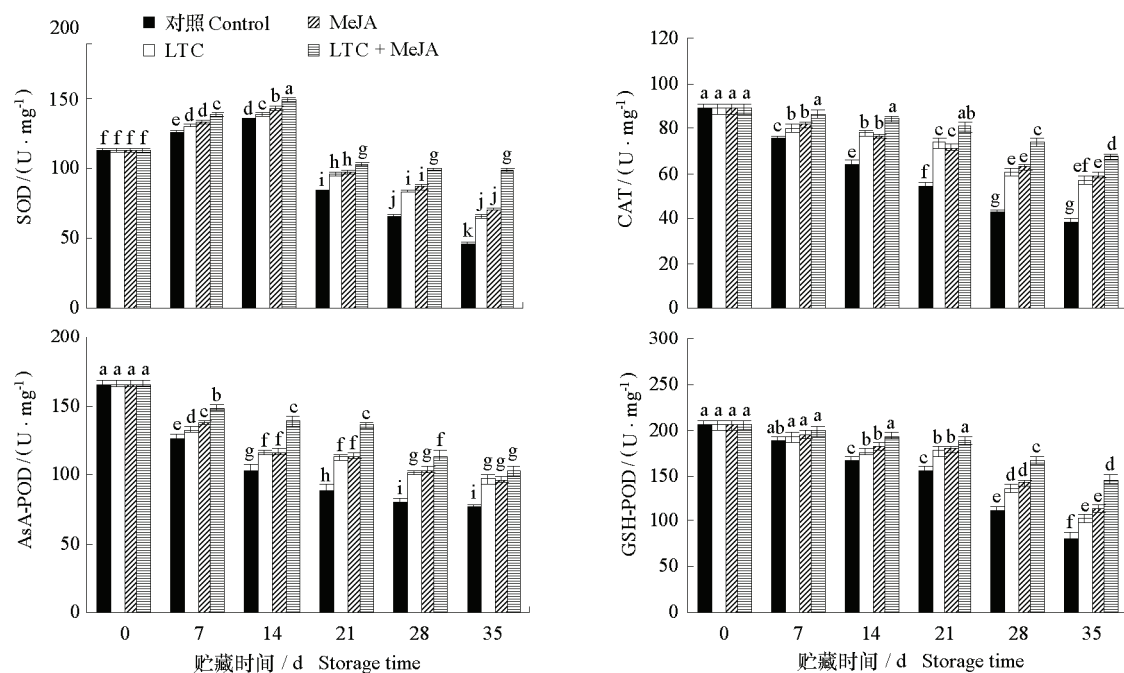


图 4 MeJA 结合 LTC 处理对枇杷果实 SOD、CAT、AsA-POD 和 GSH-POD 活性的影响

Fig. 4 Effects of MeJA combined with LTC on activities of SOD, CAT, AsA-POD and GSH-POD in cold-stored loquat fruit

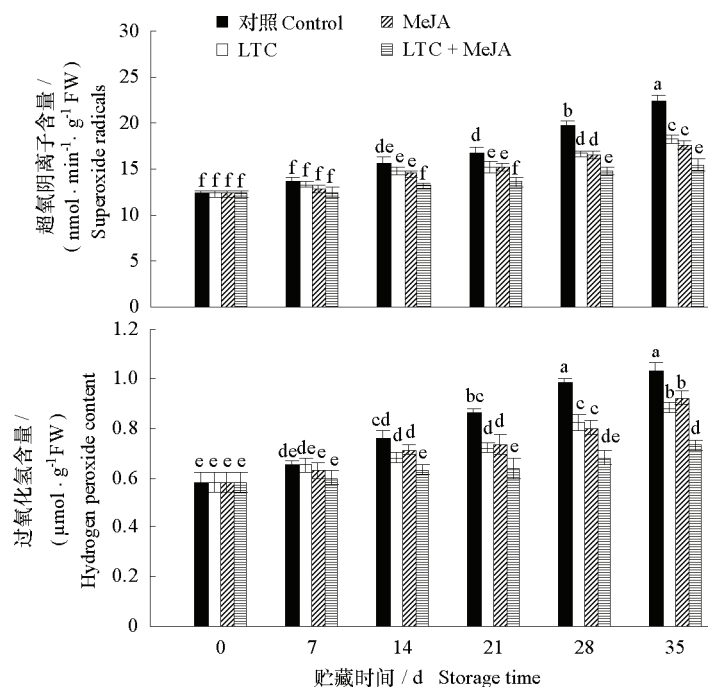


图 5 MeJA 结合 LTC 处理对枇杷果实超氧阴离子生成速率和过氧化氢含量的影响

Fig. 5 Effects of MeJA combined with LTC on O_2^- production rate and H_2O_2 content in cold-stored loquat fruit

3 讨论

近年来, 果蔬采后结合处理技术已成为研究的热点。由于结合处理可以充分发挥两种处理方式的优点, 弥补单一处理方法的不足, 对于改善果蔬贮藏品质、延长货架寿命, 有较好应用前景。Reuck 等 (2009) 报道, 气调包装结合 1-MCP 处理能有效抑制荔枝采后褐变的发生, 提高果实品质。硅窗袋气调包装结合乙烯吸收剂处理, 可以延缓‘肥城’桃的后熟, 延长贮藏寿命 (汪沂 等, 2000)。本研究表明 LTC 结合 MeJA 处理对于控制枇杷果实采后冷害具有明显的效果, 这与结合处理在‘白凤’桃果实上的研究结果 (Jin et al., 2009) 一致。

果实采后冷害的发生与活性氧代谢失调以及细胞膜损伤有密切关系。在不适当的低温贮藏条件下, 冷敏果实细胞膜首先响应低温胁迫, 同时活性氧清除酶系统的活性下降或紊乱, 从而引起活性氧自由基不断积累。大量积累的活性氧自由基会加速细胞膜脂的过氧化反应, 使细胞膜区域化遭到破坏, 细胞膜透性上升, 最终导致了冷害的发生 (Wang, 1993)。抗氧化酶系统 (包括 SOD、CAT、AsA-POD、GSH-POD 等) 是植物组织中维持活性氧代谢平衡的关键。SOD 能够专一地²将 O_2^- 歧化形成 H_2O_2 , CAT 分解 H_2O_2 生成水和氧分子, AsA-POD 和 GSH-POD 通过抗坏血酸—谷胱甘肽循环催化 H_2O_2 与抗坏血酸或谷胱甘肽反应从而清除 H_2O_2 (Bolwell & Wojtaszek, 1997)。这些抗氧化酶相互协调作用能及时清除 O_2^- 和 H_2O_2 , 使活性氧始终维持在较低水平, 有效防止其对细胞的毒害作用。

诸多研究证实提高抗氧化酶的活性, 可以有效减少芒果 (González-Aguilar et al., 2000)、番茄 (Ding et al., 2002) 等果实冷害的发生。本结果表明, LTC 结合 MeJA 处理能保持枇杷果实较高的抗氧化酶活性, O_2^- 和 H_2O_2 含量始终维持在较低水平。

MeJA 作为植物的信号分子, 参与植物生长、发育、成熟及衰老的生理调节作用, 此外 MeJA 在植物逆境胁迫过程中也起重要作用 (Wasternack, 2007)。Fung 等 (2004) 报道, MeJA 处理可以提高甜椒中活性氧代谢酶的活性及其基因表达, 延缓了甜椒冷害的发生。Wang (1995) 指出 MeJA 处理提高了西葫芦 SOD 和 CAT 活性, 并保果实中较高的多胺含量, 与减轻冷害发生密切相关。在本研究中 MeJA 增强了 LTC 处理保持抗氧化酶活性的作用效果。这说明结合处理可以维持枇杷果实冷藏期间活性氧代谢的平衡, 延缓膜质过氧化, 从而减轻果实冷害症状。

References

- Bolwell G P, Wojtaszek P. 1997. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defense: A broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 51: 347 - 366.
- Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248 - 254.
- Cao S F, Zheng Y H, Wang K T, Jin P, Rui H J. 2009. Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit. *Food Chemistry*, 115: 1458 - 1463.
- Ding C K, Wang C Y, Gross K C. 2002. Jasmonate and Salicylate induce the expression of pathogenesis-related-proteins genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruits. *Planta*, 214: 895 - 901.
- Feng Lei, Zheng Yong-hua, Wang Feng, Zhang Lan. 2003. Effects study on MeJA treatment for cold storage of peach. *Food Science*, 24 (9): 135 - 139. (in Chinese)
- 冯 磊, 郑永华, 汪 峰, 张 兰. 2003. 茉莉酸甲酯处理对冷藏水蜜桃品质的影响. *食品科学*, 24 (9): 135 - 139.
- Fung R W M, Wang C Y, Smith D L. 2004. MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers. *Plant Science*, 166: 711 - 719.
- González-Aguilar G A, Fortiz J, Wang C Y. 2000. Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit. *Journal*

- of Agriculture and Food Chemistry, 48: 515 – 519.
- González-Aguilar G A, Tiznado-Hernández M E, Zavaleta-Gatica R. 2004. Methyl jasmonate treatments reduces chilling injury and active the defence response of guava fruits. *Biochemistry and Biophysical Research Communications*, 313: 694 – 701.
- Han Jin, Tian Shi-ping. 2006. Effects of exogenous methyl jasmonate on chilling injury and physiology and biochemistry in postharvest cucumber, *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (2): 289 – 293. (in Chinese)
- 韩 晋, 田世平. 2006. 外源茉莉酸甲酯对黄瓜采后冷害及生理生化的影响. *园艺学报*, 33 (2): 289 – 293.
- Jin P, Wang K T, Shang H T, Tong J M, Zheng Y H. 2009. Low temperature conditioning combination with methyl jasmonate treatment alleviate chilling injury of peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 1690 – 1696.
- Reuck K D, Dharini S 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.
- Rui Huai-jin, Shang Hai-tao, Wang Kai-tuo, Jin Peng, Tang Shuang-shuang, Cao Shi-feng, Zheng Yong-hua. 2009. Effects of heat treatment on active oxygen metabolism and flesh lignification in cold-stored loquat fruits. *Food Science*, 30: 304 – 308. (in Chinese)
- 芮怀瑾, 尚海涛, 汪开拓, 金 鹏, 唐双双, 曹士峰, 郑永华. 2009. 热处理对冷藏枇杷果实活性氧代谢和木质化的影响. *食品科学*, 30: 304 – 308.
- Tappel A L. 1978. Glutathione peroxidase and hydroperoxidase. *Methods in Enzymology*, 52c: 506 – 513.
- Wang C Y. 1993. Approaches to reduce chilling injury of fruits and vegetables. *Horticulture Review*, 15: 63 – 95.
- Wang C Y. 1995. Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. *Postharvest Biology and Technology*, 5: 67 – 76.
- Wang Hai-bo, Huang Chun-ying, Pang Xue-qun, Xu Lan-ying, Zhang Zhao-qi. 2008. Methyl jasmonate induced cold resistance and reactive oxygen species signaling in postharvest banana fruit. *Scientia Agricultura Sinica*, 41 (4): 1165 – 1171. (in Chinese)
- 王海波, 黄椿颖, 庞学群, 徐兰英, 张昭其. 2008. 茉莉酸甲酯诱导的采后香蕉果实耐冷性与活性氧信号的关系. *中国农业科学*, 41 (4): 1165 – 1171.
- Wang Yi, Tian Shi-ping, Xu Yong, Fan Qing. 2000. Effects of Si-rubberbag on respiratory rate and ethylene release rate of ‘Feicheng’ peaches. *Acta Horticulturae Sinica*, 27: 331 – 334. (in Chinese)
- 汪 沂, 田世平, 徐 勇, 范 青. 2000. 硅窗袋处理对肥城桃果实的呼吸速率和乙烯释放速率的影响. *园艺学报*, 27: 331 – 334.
- Wasternack C. 2007. Jasmonates: An update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress responses, growth and development. *Annals of Botany*, 100: 681 – 697.
- Woolf A B, Cox K A, White A, Ferguson I B. 2003. Low temperature conditioning treatments reduce external chilling injury of ‘Hass’ avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 28: 113 – 122.
- Zhao Shi-jie, Li De-quan. 1999. The measurement of malondialdehyde. *Experimental manual of plant physiology*. Beijing: Science Press. (in Chinese)
- 赵世杰, 李德全. 1999. 丙二醛 (MDA) 的测定. *植物生理学实验手册*. 北京: 科学出版社.
- Zheng Yong-hua, Xi Yu-fang, Ying Tie-jin. 1993. Postharvest physiology and storage of loquat fruit. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 10: 276 – 281. (in Chinese)
- 郑永华, 席珣芳, 应铁进. 1993. 枇杷果实采后生理与贮藏研究. *浙江林学院学报*, 10: 276 – 281.