

一氧化氮对“大五星”枇杷贮藏期间果实抗氧化酶的影响

任艳芳, 何俊瑜, 刘冬, 刘进平

(贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要:以“大五星”枇杷为试验材料,采用 50 $\mu\text{mol/L}$ 硝普钠(SNP)溶液浸果处理 20 min,常温贮藏后,研究一氧化氮(NO)对果实贮藏期间膜脂过氧化作用和抗氧化酶活性的影响。结果表明:SNP 处理明显提高了超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性,降低了脂氧合酶(LOX)活性和丙二醛(MDA)含量的积累,从而抑制了膜脂过氧化作用,保持膜的稳定性,延缓了果实的衰老进程。此外,SNP 处理降低了贮藏期间果实中过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性。

关键词:枇杷;一氧化氮(NO);抗氧化酶;贮藏

中图分类号:S 667.309⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)03-0121-04

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)是一种原产于中国的亚热带特色水果,果实柔软多汁、风味独特、营养丰富。然而,由于枇杷果实成熟期集中,且处于高温多雨的季节,成熟衰老快,鲜食供应期短,贮运困难,严重制约了枇杷生产效益的提高^[1-2]。因此,研究枇杷果实的采后保鲜技术具有重要的意义。

一氧化氮(NO)是植物中普遍存在的信号分子,参与调控植物的生长、发育、成熟、衰老及其胁迫响应等生理过程^[3]。果实的成熟和衰老过程伴随有氧化胁迫现象^[4],NO作为一种天然的抗氧化剂可延缓果实的成熟衰老^[5]。如适当浓度的NO预处理能够通过降低乙烯合成代谢、诱导抗氧化酶基因表达和提高抗氧化酶活性、降低活性氧的积累和细胞脂质过氧化作用等,从而延缓桃子^[6]、猕猴桃^[7]、杨梅^[8]、小白杏^[9]和伽师瓜^[10]等果实采后衰老进程,改善贮藏品质,延长其保存期。目前有关NO对采后枇杷果实的研究较少,且主要集中于抗冷害机制方面的研究。XU等^[11]研究发现通过增加内源性NO水平可提高“洛阳青”枇杷果实抗冷性。而外源NO熏蒸处理“解放钟”枇杷果实,可以通过调节线粒体代谢相关酶活性,抑制苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶活性的上

升等延缓果实木质化进程,减轻冷害症状^[12-13]。

“大五星”枇杷是目前栽培面积最大,发展速度较快的一种优质枇杷品种,尚鲜有NO对其采后保鲜方面的研究。该试验以“大五星”枇杷果实为试材,以硝普钠(SNP)为NO供体,在前期浓度试验基础上,筛选出对枇杷果实保鲜效果最好的NO处理浓度用于该试验,探讨NO对采后枇杷果实贮藏期间丙二醛含量(MDA)、超氧化物歧化酶活性(SOD)、过氧化氢酶活性(CAT)、过氧化物酶活性(POD)、抗坏血酸过氧化物酶活性(APX)、脂氧合酶活性(LOX)和多酚氧化酶活性(PPO)的影响,以期揭示NO处理延缓枇杷果实成熟衰老的机理,为NO应用于“大五星”枇杷贮藏保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以“大五星”枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl. cv. Dawuxing)果实为供试材料,于2014年5月25日采摘于贵阳市开阳县,当天运回实验室。选择大小、成熟度基本相同、无病虫害、无机械损伤的果实。

1.2 试验方法

将挑选出的枇杷果实随机分为2组,分别置于50 $\mu\text{mol/L}$ 硝普钠(SNP)溶液和蒸馏水(对照)中,浸泡20 min后,自然晾干,然后将枇杷果实装入聚乙烯塑料保鲜袋中,常温(20 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏4周。每个处理60个果实,重复3次。贮藏期间每周取样1次用于测定MDA含量及SOD、CAT、POD、APX、LOX和PPO活性。

1.3 项目测定

MDA含量采用硫代巴比妥酸比色法^[14]测定。SOD

第一作者简介:任艳芳(1976-),女,山西太原人,博士,教授,现主要从事园艺产品采后贮运保鲜等研究工作。E-mail:yanfangren@126.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31360413);贵州省留学人员科技活动资助项目[黔人项目(2013)7号]。

收稿日期:2015-09-24

活性采用氮蓝四唑 (NBT) 比色法测定,以每克样品的反应体系对 NBT 的还原抑制 50% 为 1 个酶活性单位;POD 活性采用愈创木酚法测定,以 1 min 内每克样品的反应体系 A_{470} 增加 1 为 1 个过氧化物酶活性单位;CAT 活性采用比色法测定,以 1 min 内每克样品的反应体系 A_{240} 减少 0.01 为 1 个过氧化氢酶活性单位;APX 活性采用比色法测定,以 1 min 内每克样品的反应体系 A_{290} 降低 0.01 为 1 个酶活性单位;LOX 活性采用比色法测定,以 1 min 内每克样品的反应体系 A_{234} 增加 0.01 为 1 个脂氧合酶活性单位;PPO 活性采用比色法测定,以 1 min 内每克样品的反应体系 A_{420} 增加 1 为 1 个活性单位。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 16.0 进行处理,所有试验均重复 3 次,所列数据是 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 SNP 对枇杷贮藏期间果实 MDA 含量和 LOX 活性的影响

MDA 含量和 LOX 活性常常作为植物衰老与膜伤害的指标^[15]。由图 1 可以看出,随着“大五星”枇杷果实

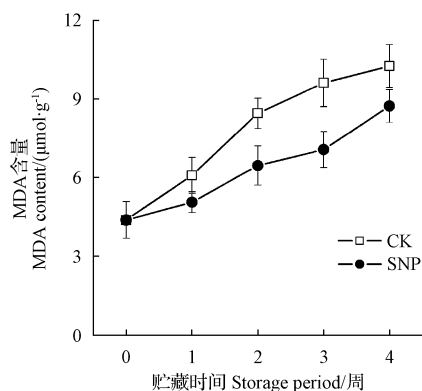


图 1 SNP 处理对枇杷果实贮藏期间 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effect of SNP treatment on MDA content in loquat fruits during storage

贮藏时间的延长,对照和 SNP 处理果实中 MDA 含量逐渐增加,在贮藏第 4 周时,对照和 SNP 处理果实中 MDA 含量增加为贮藏 0 d 的 2.3 倍和 1.9 倍,表明细胞膜脂过氧化程度加剧,细胞膜结构受损。与对照相比,SNP 明显抑制了 MDA 含量的增加,在贮藏第 4 周时,MDA 含量仅为对照的 85.1%。

图 2 表明,随着贮藏时间的延长,果实中 LOX 活性呈现出先增加后下降的趋势,在贮藏 3 周后达到最大,然后有所下降,但仍明显高于贮藏前。然而,与对照相比,SNP 处理明显降低了果实中 LOX 活性,在贮藏后第 3 周和第 4 周时,SNP 中 LOX 活性为对照的 79.4% 和 84.3%。

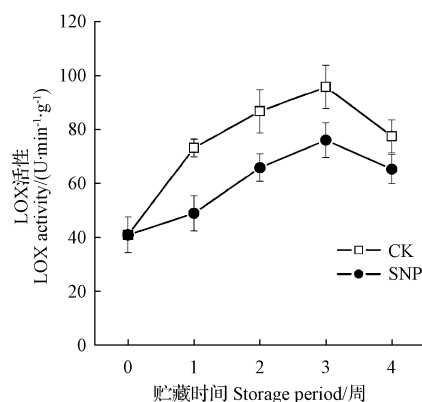


图 2 SNP 处理对枇杷果实贮藏期间 LOX 活性的影响

Fig. 2 Effect of SNP treatment on LOX activity in loquat fruits during storage

2.2 SNP 对枇杷果实贮藏期间 SOD、CAT 和 APX 活性的影响

由图 3 可以看出,随着贮藏时间的延长,枇杷果实中 SOD 活性呈现出先增加后降低的趋势,即在贮藏后第 1 周活性增加至最大,随后 SOD 活性迅速降低。然而,SNP 处理可以维持果实中较高的 SOD 活性。在贮藏第 4 周,SNP 处理果实中 SOD 活性为对照的 1.3 倍。CAT 和 APX 活性变化趋势与 SOD 相似,均表现为先增

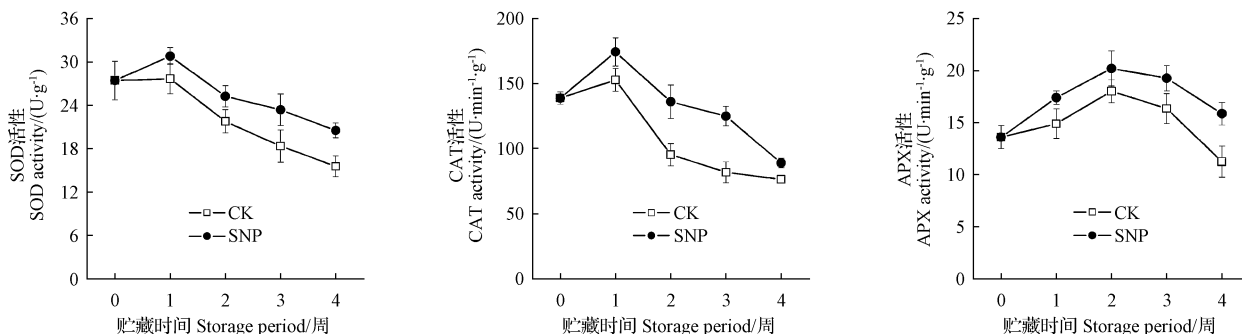


图 3 SNP 处理对枇杷果实贮藏期间 SOD、CAT 和 APX 活性的影响

Fig. 3 Effect of SNP treatment on SOD, CAT and APX activities in loquat fruits during storage

加后降低的变化的趋势,然而,APX 活性高峰出现在贮藏第 2 周。与对照相比,SNP 处理明显提高了果实中 CAT 和 APX 活性,增强了果实对活性氧的清除能力,从而延缓了果实的衰老。

2.3 SNP 对枇杷贮藏期间果实 POD 活性的影响

由图 4 可以看出,随着枇杷果实贮藏时间的延长,对照和 SNP 处理中 POD 活性逐渐增加,且以对照增加幅度最大,其活性变化趋势与秦文等^[16]在枇杷上的研究相一致。在贮藏第 4 周,对照中 POD 活性是贮藏前的 2.9 倍。SNP 明显降低了 POD 活性增加的程度,在贮藏第 4 周,其 POD 活性仅为对照的 86.3%。

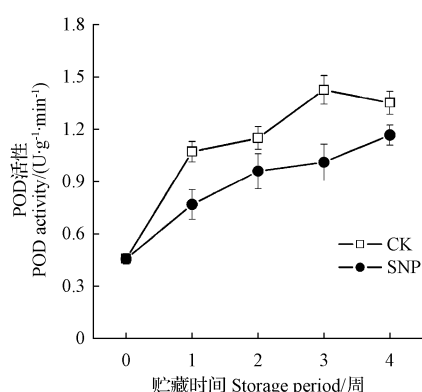


图 4 SNP 处理对枇杷果实贮藏期间 POD 活性的影响

Fig. 4 Effect of SNP treatment on POD activity in loquat fruits during storage

2.4 SNP 对枇杷贮藏期间果实 PPO 活性的影响

由图 5 可以看出,在“大五星”枇杷果实贮藏期间,对照和 SNP 处理果实中 PPO 活性逐渐增加,在贮藏第 3 周达到最大值,随后 PPO 活性快速降低。但与对照相比,SNP 处理明显降低了 PPO 活性。在贮藏第 3 周和第 4 周时,SNP 处理中 PPO 活性为对照的 87.1% 和 84.7%。

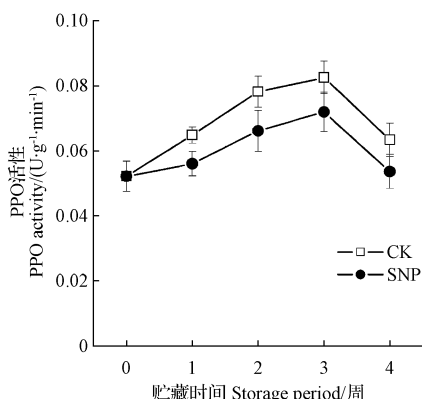


图 5 SNP 处理对枇杷果实贮藏期间 PPO 活性的影响

Fig. 5 Effect of SNP treatment on PPO activity in loquat fruits during storage

3 结论与讨论

果实衰老与膜脂过氧化作用有关。LOX 能够启动果实膜脂过氧化作用,而 MDA 是膜脂过氧化作用的中间产物。NO 可以减少 MDA 积累和 LOX 活性,从而降低果实膜脂过氧化的程度,这已在桃子^[6]、猕猴桃^[7,17]和莲雾^[18]果实的研究中得到证实。ZHU 等^[6]认为 NO 可以还原 LOX 活性中心的 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} ,从而抑制了 LOX 活性,防止了膜脂发生过氧化作用,进而减少了 MDA 的积累,保护了细胞膜结构,延缓果实的衰老进程。该研究结果表明 SNP 处理可以明显降低“大五星”枇杷果实贮藏期间 MDA 含量的积累和 LOX 活性,降低膜脂过氧化程度,这与前人研究结论相一致。

活性氧代谢失调是导致果实衰老的重要原因^[10]。SOD、CAT 和 APX 是植物体内清除活性氧自由基的主要酶类。SOD 能够通过歧化反应将 O_2^- 转化为 H_2O_2 ,而 CAT 和 APX 则可以通过不同的代谢途径将 H_2O_2 分解为 H_2O ^[19]。已有研究表明,NO 作为一种植物体内的信号物质,可以通过诱导抗氧化酶基因表达或提高抗氧化酶活性而使体内的活性氧维持在较低的水平,从而延缓果实的成熟和衰老^[8-10]。如 WU 等^[8]研究发现 NO 可以提高杨梅果实中 SOD、CAT 和 APX 活性。ZHU 等^[7]研究表明 NO 可以维持采后猕猴桃果实较高水平的 CAT、SOD 和 APX 活性。该研究结果与前人的研究结论相一致。

有研究表明,NO 可以提高果实中 POD 活性,从而增强其参与对活性氧的清除能力^[3,7,10]。然而该研究发现 SNP 处理明显抑制了果实中 POD 活性的增加。这是由于 POD 不仅可以参与植物活性氧清除,同时也是木质素生物合成中最后一步的关键酶。POD 在 H_2O_2 参与下催化木质素单体聚合成木质素,提高组织木质化程度^[20]。枇杷贮藏期间会发生明显的失水和木质化现象,采后保鲜处理如甜菜碱或热空气处理会明显抑制 POD 活性的升高,从而减轻果实质化程度,维持较好的贮藏品质^[21-22]。该研究中 SNP 对枇杷果实贮藏期间 POD 活性的抑制作用减弱是否与木质化现象有关,还有待于进一步研究。

PPO 可以催化果实中的酚类物质氧化为醌,并协同 POD 参与果实木质素合成代谢^[23]。该研究发现在“大五星”枇杷果实贮藏期间,SNP 处理可以明显降低果实 PPO 活性。张美姿等^[13]也发现 NO 熏蒸处理可以显著抑制枇杷果实冷藏中期 PPO 活性的上升。BARMAN 等^[24]认为 NO 能够和 PPO 酶活性中心的铜离子结合形成铜和亚硝酰基复合体,从而降低了 PPO 活性。

综上所述,50 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理能够有效提高“大五星”枇杷抗氧化酶的活性,降低果实的膜脂过氧化程度,保护细胞膜的完整性,从而延缓衰老。

参考文献

- [1] 孙玉洁,金鹏,单体敏,等.甜菜碱处理对枇杷果实采后冷害和活性氧代谢的影响[J].食品科学,2014,35(14):210-215.
- [2] WANG K T, CAO S F, DI Y Q, et al. Effect of ethanol treatment on disease resistance against anthracnose rot in postharvest loquat fruit [J]. Scientia Horticulturae, 2015(18):115-121.
- [3] 杨虎清,吴峰华,周存山,等. NO 对杨梅采后活性氧代谢和腐烂的影响[J].林业科学,2010,46(12):70-74.
- [4] RAZZAQ K, KHAN A S, MALIK A U, et al. Ripening period influences fruit softening and antioxidative system of 'Samar Bahisht Chaunsa' mango [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 160:108-114.
- [5] MANSOURI H. Salicylic acid and sodium nitroprusside improve postharvest life of Chrysanthemums [J]. Scientia Horticulturae, 2012, 145:29-33.
- [6] ZHU S H, LIU M C, ZHOU J. Inhibition by nitric oxide of ethylene biosynthesis and lipoxygenase activity in peach fruit during storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 42:41-48.
- [7] ZHU S H, SUN L N, LIU M C, et al. Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88:2324-2331.
- [8] WU F H, YANG H Q, CHANG Y Z, et al. Effects of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant capacity in Chinese Bayberry during storage [J]. Scientia Horticulturae, 2012, 135:106-111.
- [9] 温昕晔,李洁,张辉,等.一氧化氮对新疆小白杏采后抗氧化相关酶活性的影响[J].食品科技,2014,29(1):37-41.
- [10] 胡江伟,周江,朱璇,等.一氧化氮对新疆伽师瓜果采后贮藏品质的影响[J].食品工业科技,2015,36(13):351-356.
- [11] XU M J, DONG J F, ZHANG M, et al. Cold-induced endogenous nitric oxide generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during post-harvest storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 65:5-12.
- [12] 陈发河,张美姿,吴光斌. NO 处理延缓采后枇杷果实木质化劣变及其与能量代谢的关系[J].中国农业科学,2014,47(12):2425-2434.
- [13] 张美姿,吴光斌,陈发河. NO 熏蒸处理对冷藏枇杷果实木质化劣变的影响[J].食品科学,2014,35(16):232-237.
- [14] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验技术[M].北京:中国轻工业出版社,2007.
- [15] CHOMKITICHAI W, CHUMYAM A, RACHTANAPUM P, et al. Reduction of reactive oxygen species production and membrane damage during storage of 'Daw' longan fruit by chlorine dioxide[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 170:143-149.
- [16] 秦文,姚昕,陈宗道,等. "大五星"枇杷冷藏过程中采后生理特性的研究[J].中国食品学报,2006,6(1):151-156.
- [17] 朱树华,孙丽娜,周杰.一氧化氮对猕猴桃果实营养成分和活性氧代谢的影响[J].果树学报,2009,26(3):334-339.
- [18] 叶建兵,陈发河,吴光斌.一氧化氮对莲雾果实采后生理及品质的影响[J].集美大学学报(自然科学版),2012,17(3):180-185.
- [19] CAO S F, ZHENG Y H, WANG K T, et al. Effects of 1-methylcyclopropene on oxidative damage, phospholipases and chilling injury in loquat fruit [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009, 89:2214-2220.
- [20] 任艳芳,王思梦,何俊瑜,等.中草药淀粉壳聚糖复合膜对椪柑的保鲜效果[J].农业工程学报,2012,28(S1):300-305.
- [21] 芮怀瑾,尚海涛,汪开拓,等.热处理对冷藏枇杷果实活性氧代谢和木质化的影响[J].食品科学,2009,30(14):304-308.
- [22] SHAO X F, TU K. Hot air treatment improved the chilling resistance of loquat fruit under cold storage [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2014, 38:694-703.
- [23] JIN P, DUAN Y F, WANG L, et al. Reducing chilling injury of loquat fruit by combined treatment with hot air and methyl jasmonate [J]. Food Bioprocess Technol, 2014(7):2259-2266.
- [24] BARMAN K, SIDDIQUI M W, PATEL V B, et al. Nitric oxide reduces pericarp browning and preserves bioactive antioxidants in litchi [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 171:71-77.

Effect of Nitric Oxide on Antioxidant Enzymes of 'Dawuxing' Loquat During Storage

REN Yanfang, HE Junyu, LIU Dong, LIU Jinping

(College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract: Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl. cv. Dawuxing) fruits were taken as materials and dipped for 20 min in 50 $\mu\text{mol/L}$ sodium nitroprusside (SNP), nitric oxide donor, then stored at ambient temperature. The effect of NO on membrane lipid peroxidation and antioxidant enzymes of loquat fruits were assayed during storage. The results showed that SNP treatment maintained higher activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX), decreased the activity of lipoxygenase (LOX) and the accumulation of malondialdehyde (MDA) content, therefore inhibited lipid peroxidation, kept the stability of cell membrane, which was facilitate to delay the senescence of loquat fruit during storage. In addition, SNP inhibited activities of peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO).

Keywords: loquat; nitric oxide(NO); antioxidant enzymes; storage