

茉莉酸甲酯调控下采后蓝莓果实的生理响应研究

杨海燕, 吴文龙*, 李维林, 姚蓓, 卫云丽, 阎连飞

(江苏省中国科学院植物研究所, 南京 210014)

摘要: **目的** 以蓝莓“顶峰”(Climax)作为实验材料, 探究茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)处理对采后蓝莓生理的影响。**方法** 采用不同浓度的(0, 1, 10, 100 $\mu\text{mol/L}$)MeJA 在 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下熏蒸蓝莓果实 10 h, 贮藏于 4 $^{\circ}\text{C}$, 每 14 d 取一次样进行相关生理生化指标的测定。**结果** 不同浓度的 MeJA 处理, 在不同时间均能在一定程度上降低果实的腐烂率, 抑制果实硬度的下降和可溶性固形物含量的下降。此外还能提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(peroxidase, POD)两种酶的活性, 但在一定程度上诱导了 $\text{O}_2^{\cdot-}$ (超氧阴离子)产生速率和膜脂过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的上升。**结论** 在各处理中, 以 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 MeJA 处理效果最好。

关键词: 蓝莓; 茉莉酸甲酯; 贮藏保鲜

Effect of methyl jasmonate treatments on physiological changes of blueberry fruit

YANG Hai-Yan, WU Wen-Long*, LI Wei-Lin, YAO Bei, WEI Yun-Li, LV Lian-Fei

(Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effect of methyl jasmonate (MeJA) treatment on the physiological changes of blueberry fruit. **Methods** The variety ‘Climax’ was fumigated with 0, 1, 10, 100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA for 10 h and stored at 4 $^{\circ}\text{C}$, and then changes of quality and antioxidant ability were measured every 14 days during fruit storage. **Results** The results showed that different concentrations of MeJA treatment could significantly inhibit decay of blueberry fruit, delay the decline of firmness and the soluble solids. It also increased the activities of superoxide dismutase and peroxidase, enhanced the fruit resistance. Besides, it induced the generation of $\text{O}_2^{\cdot-}$ and malondialdehyde. **Conclusion** 10 $\mu\text{mol/L}$ MeJA treatment has a certain application value in the storage of blueberry.

KEY WORDS: blueberry; methyl jasmonate; fresh-keeping

1 引言

蓝莓(*Vaccinium* spp.)又名越桔、蓝浆果, 为杜鹃花科(Ericaceae)越桔属多年生落叶或常绿灌木状果树

[1]。蓝莓果实为浆果, 呈深蓝紫色, 果味甜酸适度, 风味独特, 具有极高的营养价值[2]。蓝莓果实成熟期在 6~8 月份的高温多雨季节, 采后呼吸作用旺盛, 各种生理代谢加快, 耐藏性低, 一般采后 20~30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(15)1026 江 02134302)、江苏省科技支撑计划项目(BE2014302-1)

Fund: Support by Jiangsu Agricultural Science and Technology Innovation Fund Project (CX(15)1026 Jiang 02134302) and Jiangsu Science and Technology Support Project (BE2014302-1)

*通讯作者: 吴文龙, 研究员, 研究方向为黑莓和蓝莓引种、育种与加工利用技术研究。E-mail: 1964wwl@163.com

*Corresponding author: WU Wen-Long, Professor, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Qianhu Houcun, Nanjing, 210014, China. E-mail: 1964wwl@163.com

仅可存放 3~7 d, 这极大地限制了果实的鲜销期和消费者的需求^[3]。近年来, 随着中国蓝莓栽培面积的不断扩大和产量的迅速增加, 生产上需要更为适宜的蓝莓贮藏保鲜的理论和技術。

茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)广泛存在于自然界中, 是植物天然合成的信号分子, 介导生物和非生物的胁迫反应, 在植物发育和果实成熟过程中发挥着重要的作用^[4]。大量研究结果表明, 外源 MeJA 能够通过调控基因表达、蛋白表达及相关酶活性, 增强植物的抗逆性, 促进营养成分的有效积累, 最终提高果蔬作物的产量与质量, 因而在果蔬产品的贮藏和营养价值的提高等方面起到了积极的作用^[5,6]。目前, 国内外有关外源 MeJA 对蓝莓果实影响的研究报道仍较少。本实验以我国南方推广种植的兔眼蓝莓品种顶峰(Climax)作为研究对象, 用 MeJA 对采收后蓝莓果实进行处理, 系统分析 MeJA 对蓝莓果实品质及贮藏性能影响的生理机制, 以期 MeJA 在蓝莓中的应用提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 实验材料

实验用“顶峰”品种蓝莓, 采自南京市溧水区白马科技园实验基地, 采收当天运回实验室, 挑选 8~9 成熟, 颜色、大小一致且无机械损伤的蓝莓果实做为实验材料。

2.2 处理方法

将挑选过的蓝莓果实随机分成 4 组, 每组果实 2.0 kg, 分别放进密闭的熏蒸室, 在 20 °C 的条件下, 分别用 0、1、10、100 μmol/L 的 MeJA 熏蒸果实 10 h, 熏蒸结束后, 取出果实冷却通风 1 h 后, 用塑封袋进行分装, 每袋 200 g, 贮藏于 4 °C, 相对湿度 90% 左右的环境下, 共贮藏 28 d, 每 14 d 取一次样, 进行相关生理生化指标的测定。

2.3 测定方法

2.3.1 果实硬度的测定

采用 FT-02 型果实硬度计(意大利 EFFEGI)测定。

2.3.2 果实腐烂率的测定

腐烂率以蓝莓果实表面发生汁液外漏或腐烂现象作为判别依据。

计算公式: 腐烂率(%)=(腐烂的果实数量/果实总数)×100

2.3.3 果实可溶性固形物的测定

采用 PAL-1 型便携式速显糖度计(日本 ATAGO)测定。

2.3.4 果实超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的测定

参照 Beyer 等^[7]黄嘌呤氧化酶法, 取 200 g 鲜果打浆, 取鲜重 4.0 g 的果浆泥, 加入 30 mL 浓度为 50 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.8)于冰浴上匀浆, 4 °C 下 10000 g 离心 10 min, 上清液用于酶活性分析, 以每 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个单位(U)。

2.3.5 果实过氧化物酶(oxidase, POD)活性的测定

采用愈创木酚法^[8], 取 300 μL 酶液, 加入 3 mL 反应液混匀后在 470 nm 处测定其吸光值, 每隔 30 s 读数一次, 以每分钟吸光度变化 0.01 作为一个酶活力单位。

2.3.6 果实超氧阴离子自由基(O₂⁻)产生速率的测定

采用罗广华等^[9]羟胺氧化反应方法测定。0.5 mL 粗酶液中加入 0.5 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8)和 1 mL 1 mmol/L 盐酸羟胺, 摇匀后于 25 °C 下保温 1 h, 再加入 1 mL 17 mmol/L 对氨基苯磺酸和 1 mL 7 mmol/L α-萘胺, 混匀后于 25 °C 下保温 20 min, 测定 530 nm 处的吸光值, 根据公式计算 O₂⁻产生速率。

2.3.7 果实丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的测定

参照 Health 等^[10]硫代巴比妥酸比色法测定。取 200 g 鲜果打浆, 取鲜重 4.0 g 的果浆泥, 加入 30 mL 10%三氯乙酸溶液研磨, 4000 g 离心 10 min, 取上清 2 mL, 加入 2 mL 0.6%硫代巴比妥酸(TBA)溶液后混匀, 沸水浴反应 30 min, 迅速冷却后离心, 取上清液, 分别测定 532 nm、600 nm 和 450 nm 处的吸光值, 根据公式计算 MDA 含量。

2.3.8 统计分析

用 Excel 2003 分析软件进行数据汇总、统计与分析, 用 Duncan 检验进行显著性分析($P < 0.05$)。

3 结果与分析

3.1 蓝莓果实硬度的变化

硬度与果实的可贮性密切相关, 能够直接反映出果实的软化程度。在贮藏期内, 果实的硬度逐渐下降, 除 28 d 100 μmol/L 的 MeJA 处理外, 各组 MeJA 处理下的果实硬度始终高于对照, 其中 10 μmol/L 的 MeJA 处理效果最好, 在 28 d 与对照相比达到显著差异($P < 0.05$), 可以有效的抑制蓝莓果实

的软化进程。

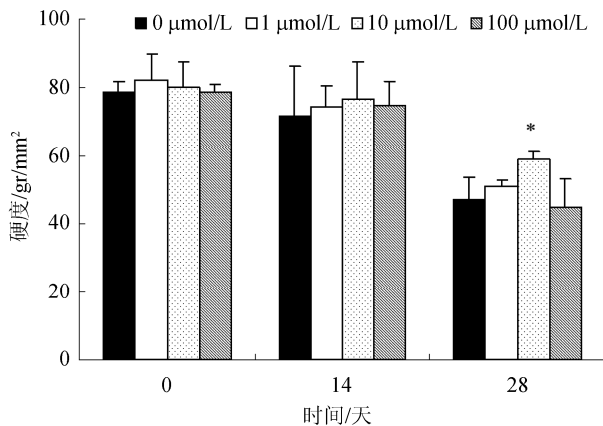


图 1 MeJA 处理对采收后蓝莓果实硬度的影响

Fig. 1 Effect of MeJA treatment on the firmness of blueberry fruit

3.2 蓝莓果实腐烂率的变化

蓝莓果实采收后腐烂是影响其货架期和果实品质的重要指标。由图 2 可见, 随着时间的延长, 蓝莓果实的腐烂率逐渐上升。在 14 d 时, 各处理组腐烂率均有所上升, 但 10 μmol/L 的 MeJA 处理组腐烂率显著低于对照, 仅有对照的 61.2%; 在 28 d 时, 各处理组均显著低于对照, 显著抑制了腐烂的发生, 延长了果实的寿命, 其中 10 μmol/L 的 MeJA 处理组与对照相比, 仅为对照的 36.2%, 差异显著($P < 0.05$)。

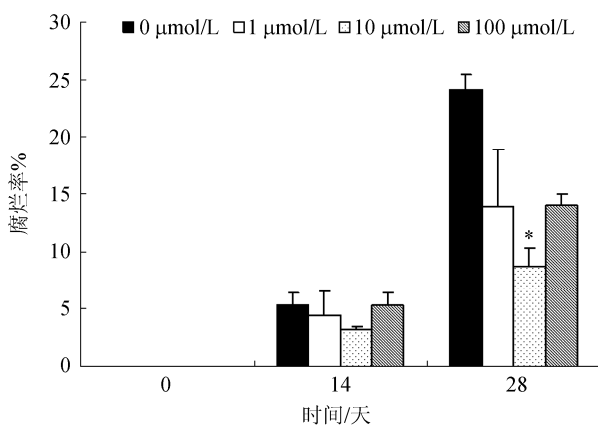


图 2 MeJA 处理对采收后蓝莓果实腐烂率的影响

Fig. 2 Effect of MeJA treatment on the decay rate of blueberry fruit

3.3 蓝莓果实可溶性固形物含量的变化

由图 3 可见, 在贮藏期间, 对照蓝莓果实可溶性固形物含量逐渐下降。14 d 时, 各 MeJA 处理组并没有显著抑制可溶性固形物含量的降低, 而当贮藏时间达到 28 d 时, 各 MeJA 处理组均有效的抑制了可溶性固形物含量的降低, 其中 10 μmol/L 的 MeJA 处理组的效果最好, 与对照相比, 保持了较高的固形物含量, 差异显著($P < 0.05$)。这也表明 MeJA 的调控可能是在果实贮藏的后期发挥作用。

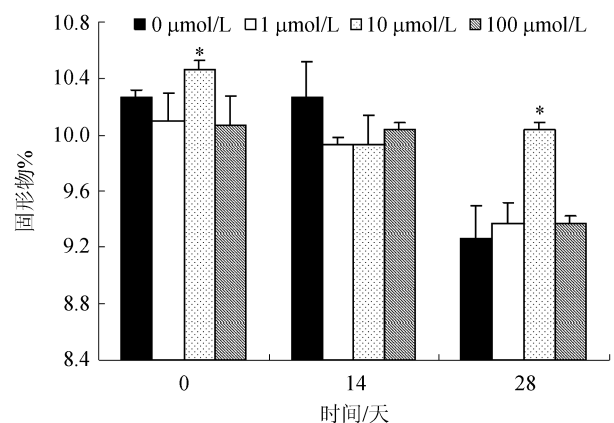


图 3 MeJA 处理对采收后蓝莓果实可溶性固形物含量的影响

Fig. 3 Effect of MeJA treatment on the soluble solid content of blueberry fruit

3.4 蓝莓果实 SOD 活性的变化

SOD 是 Mehler 反应产物 O_2^- 的关键性清除酶, 它催化 O_2^- 发生歧化反应, 生成 H_2O_2 。从图 4 可以看出, 随着贮藏时间的延长, 对照的 SOD 酶活性逐渐上升。MeJA 处理下, SOD 酶活性均有所上升。其中, 在 14 d, 10 μmol/L 的 MeJA 处理组的效果显著($P < 0.05$), 与对照相比显著升高了 42.1%。

3.5 蓝莓果实 POD 活性的变化

过氧化物酶(POD)是植物在逆境条件下的主要抗氧化酶之一, 其可以避免活性氧在植物体内的产生与积累。果实在贮藏过程中不断衰老, POD 可以有效的清除由衰老产生的自由基, 延长果实的贮藏时间。如图 5 所示, 对照的 POD 活性在贮藏过程中不断上升, MeJA 处理组的 POD 活性均高于对照, 其中 10 μmol/L 的 MeJA 处理组在 14 d 时效果显著($P < 0.05$), 比对照上升了 10.8%。在 28 d 时, 1 μmol/L 和

100 $\mu\text{mol/L}$ 的 MeJA 处理组的 POD 活性显著增加, 比对照上升了 57.7% ($P < 0.05$)。

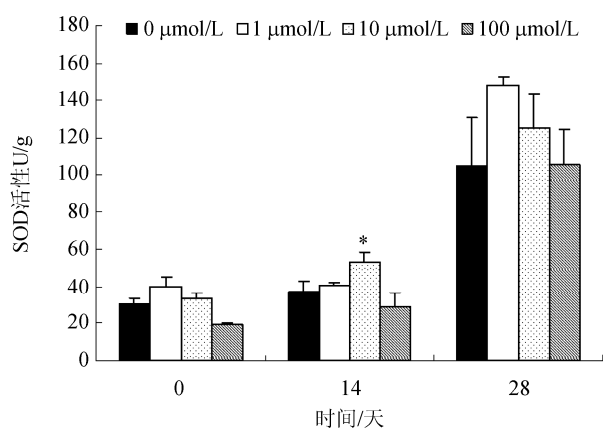


图4 MeJA处理对采后蓝莓果实SOD活性的影响

Fig. 4 Effect of MeJA treatment on the SOD activity of blueberry fruit

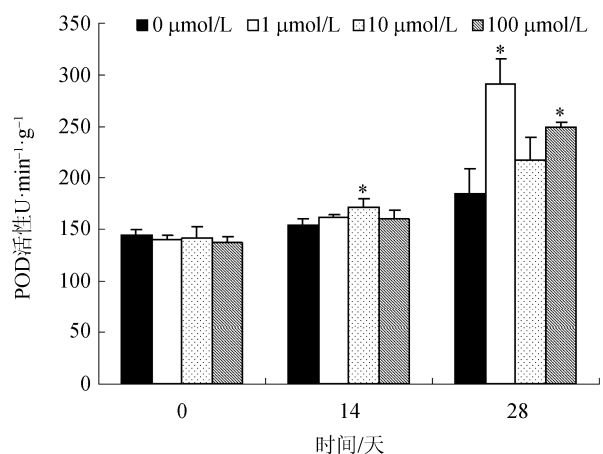


图5 MeJA处理对采后蓝莓果实POD活性的影响

Fig. 5 Effect of MeJA treatment on the POD activity of blueberry fruit

3.6 蓝莓果实超氧阴离子(O_2^-)产生速率的变化

O_2^- 是植物代谢过程中产生的主要的活性氧自由基,对膜脂具有较强的氧化作用。如图6所示,随着贮藏时间的延长,对照组 O_2^- 产生速率呈先升后降的趋势,在14 d达到最大值,为对照的174.7%,表明在贮藏过程中,果实细胞内也有一定的 O_2^- 产生。部分MeJA处理组 O_2^- 产生速率高于对照,在14 d时10 $\mu\text{mol/L}$ 的MeJA处理组显著高于对照,在28 d

时1 $\mu\text{mol/L}$ 的MeJA处理组显著高于对照($P < 0.05$)。MeJA处理在调控自由基的产生方面,并未起到明显的抑制作用。

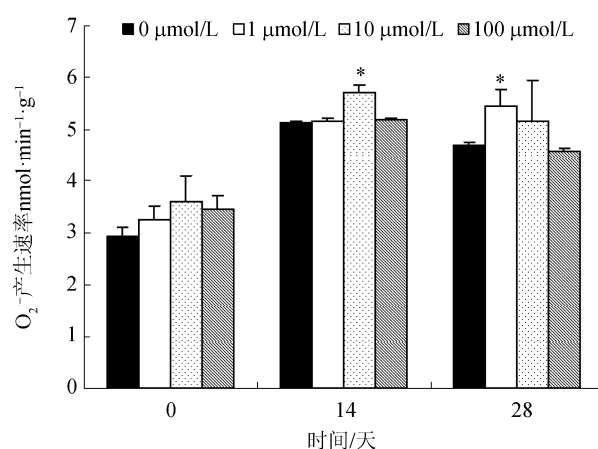


图6 MeJA处理对采后蓝莓果实 O_2^- 产生速率的影响

Fig. 6 Effect of MeJA treatment on the generation rate of O_2^- of blueberry fruit

3.7 蓝莓果实MDA含量的变化

MDA是膜脂过氧化的主要产物之一,其含量可用以表明生物体所承受的氧化压力,间接反映细胞的损伤情况。如图7所示,随着贮藏时间的延长,各组MDA含量均有所上升,其中MeJA处理组MDA均高于对照,在14 d时10 $\mu\text{mol/L}$ 的MeJA处理组显著高于对照,在28 d时1 $\mu\text{mol/L}$ 的MeJA处理组显著高于对照($P < 0.05$)。MeJA处理在调控膜脂过氧化产物的产生方面,并未起到明显的抑制作用。

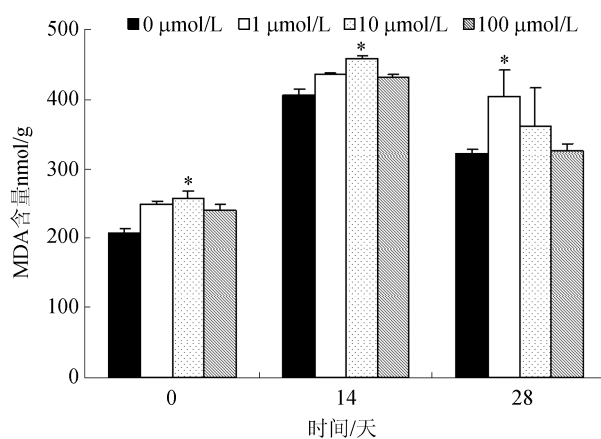


图7 MeJA处理对采后蓝莓果实MDA含量的影响

Fig. 7 Effect of MeJA treatment on the MDA content of blueberry fruit

4 讨 论

蓝莓采收后呼吸作用旺盛, 各种生理代谢加快, 容易腐烂, 是限制蓝莓果实采收后贮藏期的最重要因素。MeJA 作为植物天然合成的信号分子, 在植物发育和果实成熟过程中发挥重要作用。近年来, 在采收后园艺果蔬贮藏研究中发现, MeJA 可有效提高多种果蔬抗病性, 减少采收后腐烂的发生, 但 MeJA 处理效果与处理浓度等因素密切相关^[5,6,11]。在本研究中, 1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 MeJA 处理均能有效的抑制蓝莓果实采收后腐烂率和硬度的下降, 在一定程度上延长了蓝莓果实贮藏期, 保持了果实的食用品质, 其中 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 MeJA 处理效果最显著。

植物细胞中的活性氧在许多代谢过程中都能自然产生, 如光合作用、呼吸作用等。在正常情况下, 活性氧的产生和清除处于动态平衡状态。但当植物受到逆境胁迫时, 植物体内活性氧的产生与清除之间所维持的动态平衡, 会随着胁迫程度的加重或胁迫时间的延长而被破坏。从而导致植物细胞活性氧代谢的失调和自由基的积累, 最终使得细胞膜脂过氧化, MDA 含量上升, 膜功能受到伤害, 细胞结构受到破坏^[11-13]。SOD 和 POD 是植物细胞中活性氧清除酶系统的主要活性氧代谢酶。其中 SOD 能够催化 O_2^- 发生歧化反应, 生成 H_2O_2 , H_2O_2 又可以在 POD 酶的作用下生成 H_2O , 从而减轻活性氧对植物细胞的伤害作用^[12]。在本实验中, 随着贮藏时间的延长, SOD 和 POD 活性逐渐上升, 其中 1、10 $\mu\text{mol/L}$ 的 MeJA 处理组 SOD 活性显著高于对照, 而 1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 MeJA 处理组的 POD 活性均高于对照, 该结果表明 MeJA 可以通过诱导植物细胞抗氧化酶活性的升高来增强蓝莓果实的抗逆性, 从而延缓蓝莓果实衰老。但是实验研究同时也发现, MeJA 处理组对于 O_2^- 产生速率和膜脂过氧化产物 MDA 含量的上升并没有起到明显的抑制作用。韩晋^[14]、吴国昭等^[15]研究发现外源 MeJA 等信号分子能够诱导植物细胞内过氧化物的积累, 改变相关病程蛋白, 通过激发保护酶的活性来增加植物抗逆性, 从而达到减缓植物伤害发生的目的。本实验中通过 MeJA 处理可能是通过诱导自由基的积累, 但在一定程度上激活了蓝莓果实细胞的抗氧化系统, 从而增强了蓝莓果实的抗氧化能力, 蓝莓果实细胞中的活性氧代谢仍然处于动态的平衡状态。

5 结 论

综上, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏条件下, MeJA 处理显著抑制了果实腐烂的发生和硬度的下降, 提高了果实的抗氧化酶 SOD 和 POD 活性, 在一定程度上延缓了果实可溶性固形物含量的下降, 延长了果实的贮藏期, 保持了果实的品质, 实验结果显示 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 MeJA 处理的效果最佳, 因此 MeJA 作为天然的保鲜剂, 在蓝莓果实采收后贮藏过程中具有一定的应用价值。此外, MeJA 处理并没有显著抑制 O_2^- 产生速率和 MDA 含量的上升, 其相关作用机制还需进一步深入研究。

参考文献

- [1] Angeletti P, Castagnasso H, Miceli E, *et al.* Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties [J]. *Postharvest Bio Tec*, 2010, 58(2): 98–103.
- [2] Naczek M, Grant S, Zadernowski R, *et al.* Protein precipitating capacity of phenolics of wild blueberry leaves and fruits [J]. *Food Chem*, 2006, 96(4): 640–647.
- [3] 刘萌, 范新光, 王美兰, 等. 不同包装方法对蓝莓采收后生理及贮藏效果的影响[J]. *食品科学*, 2013, 34(14): 346–350.
Liu M, Fan XG, Wang ML *et al.* Influence of different packaging methods on physiological properties of blueberry during postharvest storage [J]. *Food Sci*, 2013, 34(14): 346–350.
- [4] Arimura G, Ozawa R, Shimoda T, *et al.* Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves [J]. *Nature*, 2000, 406(6795): 512–515.
- [5] 张红宇, 尹京苑, 万嗣宝. 水杨酸和茉莉酸甲酯处理对水蜜桃低温贮藏冷害的影响[J]. *食品工业*, 2012, 33(10): 88–91.
Zhang HY, Yin JY, Wan SB. Effects of salicylic acid and methyl jasmonate in combination with low temperature conditioning on chilling injury in honey peach [J]. *Food Ind.* 2012, 33(10): 88–91.
- [6] 汪开拓, 郑永华, 唐文才, 等. 茉莉酸甲酯处理对采收后葡萄果实酚酸合成和抗氧化活性的影响及其机理研究[J]. *食品科学*, 2013, 34(6): 260–265.
Wang KT, Zheng YH, Tang WC, *et al.* Effect of methyl jasmonate treatment on synthesis and antioxidant of phenolic acids in grape berries and corresponding mechanisms [J]. *Food Sci*, 2013, 34(6): 260–265.
- [7] Beyer WF, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of changes in conditions [J]. *Anal Biochem*, 1987, 161(2): 559–566.

- [8] Maehly AC. Plant peroxidase [J]. *Method Enzymol*, 1955, (2): 801–813.
- [9] 罗广华, 王爱国. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. *植物生理学通讯*, 1990, (6):94–95 .
Luo GH, Wang AG. The quantitative relationship between the generation rate of O_2^- and the reaction of hydroxylamine [J]. *Plant Physiol Commun*, 1990, (6):94–95.
- [10] Heath R L, Parker L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1968, 125(1): 189–193.
- [11] 胡文忠, 姜爱丽, 蔡慧, 等. 茉莉酸甲酯处理对软枣猕猴桃生理生化变化的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(4): 331–334.
Hu WZ, Jiang AL, Cai H, *et al.* Effect of MeJA treatments on physiological and biochemical changes for *Actinidia arguta* [J]. *Sci Tech Food Ind*, 2013, 34(4): 331–334.
- [12] 王耀晶, 马聪, 张薇, 等. 干旱胁迫下硅对草莓生长及生理特性的影响[J]. *核农学报*, 2013, 27(5): 703–707.
Wang YJ, Ma C, Zhang W, *et al.* Effects of silicon on strawberry growth and physiological characteristics under drought stress [J]. *Acta Agr Nucl Sin*, 2013, 27(5): 703–707.
- [13] 金鹏, 吕慕雯, 孙萃萃, 等. MeJA 与低温预贮对枇杷冷害和活性氧代谢的影响[J]. *园艺学报*, 2012, 39(2):461–468.
Jin P, Lv MW, Sun CC, *et al.* Effects of methyl jasmonate in combination with low temperature conditioning on chilling injury and active oxygen metabolism in loquat fruits [J]. *Acta Horti Sin*. 2012, 39(2): 461–468.
- [14] 韩晋, 田世平. 外源茉莉酸甲酯对黄瓜采后冷害及生理生化的影响[J]. *园艺学报*, 2006, 33(2):289–293.
Han J, Tian SP. Effects of exogenous methyl jasmonate on chilling injury and physiology and biochemistry in postharvest cucumber [J]. *Acta Horti Sin*. 2006, 33(2):289–293.
- [15] 吴国昭, 曾任森. 外源水杨酸甲酯和茉莉酸甲酯处理对挺立型普通野生稻保护酶活性的影响[J]. *西北农业学报*, 2007, 16(3): 82–84.
Wu GZ, Zeng RS. The influence of protective enzymes of perpendicular Gaozhou wild rice (*Oryza rufipogon*) treated with exterior signal compounds salicylates and jasmonates [J]. *Acta Agric Boreali-occidentalis Sin*, 2007, 16(3): 82–84.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



杨海燕, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为小浆果类生物技术研究。
E-mail: haiyanyang_025@126.com



吴文龙, 学士, 研究员, 主要研究方向为黑莓和蓝莓引种、育种与加工利用技术研究。
E-mail: 1964wwl@163.com