

水分胁迫对冷藏韭菜叶片衰老和活性氧代谢的影响

侯建设¹ 李中华¹ 席珣芳²

1(中国人民解放军海军医学研究所,上海,200433) 2(浙江大学生物系统工程与食品科学学院,杭州,310029)

摘要 与保水处理韭菜相比,对照(CK)韭菜冷藏期间,失水很快,遭受严重水分胁迫,其叶片叶绿素含量和色调角(hue angle)值显著降低。水分胁迫降低了韭菜抗氧化剂、类胡萝卜素和抗坏血酸含量,抑制了抗氧化酶特别是SOD(超氧化物歧化酶)和CAT(过氧化氢酶)活性,促进了H₂O₂和膜脂过氧化产物MDA(丙二醛)的积累。采后水分胁迫促进了冷藏韭菜衰老,其机制与水分胁迫促进活性氧代谢失调和膜脂过氧化有关。

关键词 韭菜,水分胁迫,冷藏,衰老,活性氧

叶片是植物蒸腾水分的主要器官,在停止供水或供水不足时,往往因大量失水而遭受水分胁迫。大量研究表明,采前水分胁迫能促进作物叶片活性氧代谢失调和叶绿素的降解,从而导致或加快叶片的衰老^[1~6]。叶菜主要由新鲜叶片组成,采后冷藏期间容易失水,导致严重萎蔫,从而限制其保鲜期。然而冷藏期间水分胁迫对叶菜叶片衰老的效果及其生理效应尚未见报道。文中研究了采后水分胁迫对冷藏韭菜叶片衰老和活性氧代谢的影响,为叶菜保水保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

韭菜(*Allium tuberosum*)采自上海浦东高桥菜园,采后立即运回海军医学研究所食品实验室,剔除过老、过嫩、有机械伤、虫咬的菜后,把整齐一致的韭菜随机分成10份,每份约1 kg。其中5份直接装多孔塑料筐,任其自然失水,作为对照(CK);另5份装在塑料袋(PE 0.05 mm),袋口自然合拢,不扎口,用薄膜防止大量失水,作为保水处理。在4℃条件下贮藏。

1.2 酶液提取

定期从每处理随机取9株韭菜,取其全部展开叶片,对每一叶片的基部以上2 cm至叶尖以下2 cm之间的部分,用不锈钢剪刀将其切成1 cm长的小段,混匀后立即称取1.500 0 g,加入50 mmol/L pH 7.8的磷酸缓冲液5 mL和0.5 g石英砂,于冰浴中研磨成匀浆,转入10 mL离心管,再用3 mL缓冲液洗涤研钵,洗涤液也转入上述离心管,在4℃下18 000 g离心20 min,取上清液(记录其体积)用于酶活性和丙二

醛(MDA)含量的测定。

1.3 测定指标及方法

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性测定参照文献[7]。抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照文献[8],以每g叶片的APX每分钟使290 nm下吸光度的下降0.001为一个活性单位。MDA含量测定参照文献[9]。叶绿素和类胡萝卜素提取、含量测定参照文献[10]。H₂O₂含量提取、测定参照文献[11],以OD₄₁₀表示H₂O₂含量。重复3次。

抗坏血酸含量测定:取韭菜叶段2 g,在冰浴中用质量分数2%草酸5 mL匀浆,转入离心管,用3 mL草酸洗研钵,洗液并入离心管,然后在4℃下10 000 g离心15 min,取上清液,记录体积,上清液中加入白陶土脱色,离心。取上清液2 mL加2%草酸8 mL,用0.6 mmol/L的2,6-二氯酚标准溶液滴定至桃红色15 s不褪为止,记录消耗2,6-二氯酚标准溶液的体积。重复3次。

叶片色泽测定:用上海精密仪器有限公司产WSC-S型测色色差计测定。取1棵韭菜的全部展开叶片,按由内到外的顺序,排列成一个平面,从叶尖往下2 cm至叶基以上2 cm的叶片,均匀地定出5个测点,测定其a*和b*值,hue angle值= $\tan^{-1}(b^*/a^*)$,取其平均为这棵韭菜叶片的色度值。每处理重复9次。

2 结果与分析

2.1 冷藏期间韭菜失重的变化

图1可见,CK韭菜失重率随采后时间延长迅速增加,3 d时失重率达21.3%,叶片明显萎蔫。7 d时失重率约60%,这表明CK韭菜采后失水很快,遭受严重的水分胁迫。而保水处理的韭菜冷藏期间失重率增加缓慢,采后7 d时仅失水5%,叶片不萎蔫,这

第一作者:博士研究生,助理研究员。

收稿日期:2005-01-11,改回日期:2005-04-11

表明保水处理有效防止了韭菜采后的大量失水,延缓和降低了水分胁迫(见图1)。

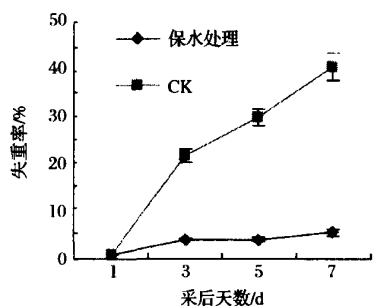


图1 韭菜采后失重率的变化

2.2 采后水分胁迫对韭菜叶片抗氧化酶活性和抗氧化剂含量的影响

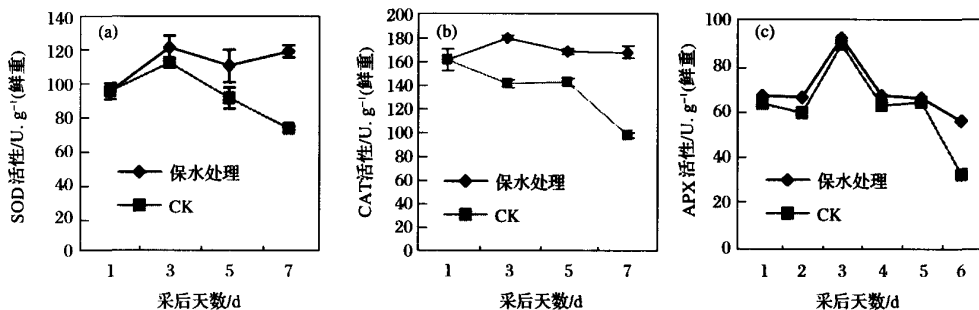


图2 采后失水对韭菜叶片SOD(a)、CAT(b)和APX(c)活性的影响

采后6 d和7 d时CK韭菜类胡萝卜素含量和抗坏血酸含量分别显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$)低于保水处理(见表1),表明采后失水促进了韭菜叶片抗氧化剂含量的降低。

表1 水分胁迫对冷藏韭菜叶片抗氧化剂含量的影响

处 理	类胡萝卜素含量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (鲜重)	还原型抗坏血酸含量 / $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (鲜重)
保水处理	539.57	27.88
对 照	466.40	16.98

2.3 采后水分胁迫对韭菜叶片褪绿、叶绿素降解和 H_2O_2 积累的影响

hue angle(色调角)可定量表示果蔬的颜色,在 $-\pi/2$ 和0范围内变化时,其值越大,表示颜色越绿,反之表示越黄^[13]。从图3可见,保水处理韭菜 hue angle 值7 d 时比5 d 时显著降低($P < 0.05$),CK 韭菜 hue angle 值5 d 和7 d 时分别极显著($P < 0.01$)和显著($P < 0.05$)地低于保水处理,表明水分胁迫促进韭菜采后 hue angle 值的下降,即加快叶片褪绿黄化。

采后3 d 保水处理韭菜 SOD 活性显著上升($P < 0.05$),此后变化很小,保持较高活性水平;而CK 韭菜3 d 时 SOD 活性也有所增加,但上升幅度较保水处理小,此后呈下降趋势,7 d 时降低35.1%,极显著($P < 0.01$)低于同一时间保水处理的 SOD 活性,表明采后水分胁迫抑制了韭菜 SOD 活性(见图2-a)。保水处理韭菜 CAT 活性3 d 时上升,此后保持较高水平,而CK 韭菜的 CAT 活性,呈下降趋势,3 d 和7 d 时分别显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$)低于保水处理的 CAT 活性,表明采后水分胁迫降低了CAT 活性(见图2-b)。CK 和保水处理韭菜的APX(抗坏血酸过氧化物酶)活性均呈峰形变化,但前者APX 活性低于后者,6 d 时差异达极显著水平($P < 0.01$)(见图2-c),表明采后失水降低了韭菜 APX 活性。

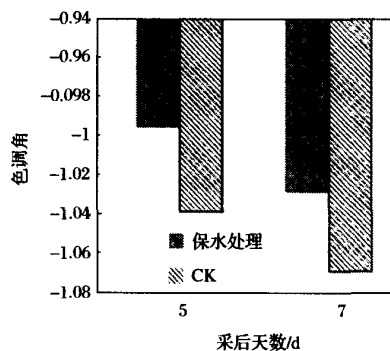


图3 采后失水对韭菜叶片 hue angle (色调角)值的影响

采后6 d 时CK 韭菜叶片 H_2O_2 含量极显著($P < 0.01$)高于保水处理,而5 d 时其叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量显著低于保水处理($P < 0.05$)(见表2),表明采后失水促进了韭菜叶片 H_2O_2 积累和叶绿素降解。

表 2 水分胁迫对冷藏韭菜叶片叶绿素降解和过氧化氢积累的影响

处 理	叶绿素含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (鲜重)			H_2O_2 含量 (OD_{410})
	Chl.a	Chl.b	Chl.	
保水处理	610.93	274.57	885.28	3.432
对 照	457.81	207.15	664.80	5.298

Chl. 是 Chlorophyll(叶绿素)的简写;Chl.a 和 Chl.b 分别表示叶绿素 a 和叶绿素 b; OD_{410} 是 410 nm 波长下的吸光度,表示 H_2O_2 相对含量。

2.4 采后水分胁迫对韭菜叶片膜脂过氧化的影响

从图 4 可见,CK 韭菜 MDA 含量迅速上升,5 d 时达到峰值,此后下降,保水处理 MDA 含量采后增加缓慢,5 d 时极显著低于 CK($P<0.01$),表明采后失水促进了韭菜叶片膜脂过氧化。

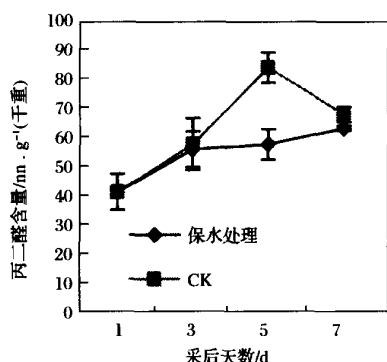


图 4 采后失水对韭菜叶片丙二醛含量的影响

3 讨 论

绿色植物叶片的衰老的感官表现是褪绿黄化,这是叶绿素含量降低的结果,在叶片衰老研究中往往以叶绿素降解作为衰老指标^[12]。本试验中 hue angle 值的变化反映出采后失水加快了韭菜叶片的褪绿黄化^[13],与采后失水促进叶绿素降解、导致叶绿素含量降低的结果是一致的,这证明采后失水加快了韭菜叶片的衰老。

水分胁迫促进采前作物叶片衰老与水分胁迫降低抗氧化酶活性和抗氧化剂含量,导致活性氧代谢失调有关^[1~6]。本试验中水分胁迫导致韭菜叶片 SOD 活性的降低,使生成的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 不能及时清除而积累。 H_2O_2 清除酶活性的下降,特别是 CAT 活性的降低,可促进 H_2O_2 的积累,这与 6 d 时 CK 韭菜叶片的 H_2O_2 含量极显著($P<0.01$)高于保水处理相吻合。还原型抗坏血酸既可作为抗氧化剂直接清除活性氧,又作为还原剂参与 APX 对 H_2O_2 的清除,研究表明,采后水分胁迫促进了抗坏血酸含量的降低,从而有利于活性氧的积累。类胡萝卜素清除活性氧和

保护叶绿素的作用^[14,15],因此水分胁迫导致其含量的显著降低,促进了活性氧的积累和叶绿素的降解。上述结果说明水分胁迫促进了韭菜活性氧代谢失调、积累。这些积累的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 一方面直接氧化叶绿素导致叶绿素含量的快速下降^[16~18];另一方面通过 Fenton 型 Haber weiss 反应形成毒性更强的羟自由基,加剧膜脂过氧化或脱脂化,损伤膜系统,促进叶绿素降解,加速叶片的衰老。

水分胁迫促进采后植物叶片的衰老与加强膜脂过氧化反应密切相关^[1,4]。MDA 含量可指示膜脂过氧化的强弱^[9],本研究中水分胁迫刺激了韭菜叶片 MDA 含量的上升,说明水分胁迫加剧了韭菜叶片的膜脂过氧化,从而促进叶绿素降解等衰老进程。

4 结 论

采后水分胁迫促进了冷藏韭菜叶片活性氧代谢失调、膜脂过氧化加强和叶绿素的降解,从而加快韭菜衰老。

参 考 文 献

- 陈立松,刘星辉.水分胁迫对荔枝叶片活性氧代谢的影响[J].园艺学报,1998,25(3):241~246
- 陈由强,朱锦慧,叶冰莹.水分胁迫对芒果幼叶细胞活性氧伤害的影响[J].生命科学研究,2000,4(1):60~64
- 何承坤,郭素枝,李家慎.干旱胁迫对番茄活性氧代谢的影响[J].福建农业大学学报,1996,25(3):307~311
- 吕 庆,郑荣梁.干旱及活性氧引起的小麦膜脂过氧化与脱脂化[J].中国科学(C辑),1996,26(1):26~30
- Zhang J X, Kirkham M B. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings [J]. New Phytology, 1996, 132: 361~372
- Baisak R, Rana D, Acharya P B. Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress[J]. Plant Cell Physiology, 1994, 35(3): 489~495
- 何宇炯,徐如涓,赵毓橘.表油菜素内酯对绿豆内叶衰老的促进作用[J].植物生理学报,1996,22(1):58~62
- Nakano Y, A sada K. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts, its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by mono dehydroascorbate radical [J]. Plant Cell Physiol, 1987, 28: 131~134
- 王爱国.丙二醛作为植物膜脂过氧化指标的探讨[J].植物生理学通讯,1986, 22(2):55~57
- 潘增光,王国宾,李奎明,等.新红星苹果果实着色期几种色素含量变化及其相关性[J].植物生理学通讯,1996, 32:347~349
- 沈文彪,叶茂柄,徐朗莱,等.小麦旗叶自然衰老过程中清除活性氧能力的变化[J].植物学报,1997,39:634~640
- Biswas A K, Choudhuri M A. Mechanism of monocarpic senescence in rice[J]. Plant Physiol, 1980, 65: 340

- 13 王阳光. 采后青梅果实叶绿素降解机制及保绿措施的研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2003: 23~32
- 14 蒋明义, 郭绍川. 水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(2): 144~150
- 15 蒋明义, 杨文英, 徐 汇, 等. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用[J]. 植物学报, 1994, 36(4): 289~295
- 16 伍泽堂. 超氧自由基与叶片衰老时叶绿素破坏的关系(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(4): 277~279
- 17 Janave M T. Enzymic degradation of chlorophyll in Cavendish bananas: in vitro evidence for two independent degradative pathways[J]. Plant Physiol. Biochem, 1997, 35: 837~846
- 18 曾韶西, 王以柔, 刘鸿光. 低温光照下与黄瓜子叶叶绿素降低有关的酶促反应[J]. 植物生理学报, 1991, 17(2): 177~182

Effect of Water Stress on Senescence and Active Oxygen Metabolism of Leek Blade during Cold Storage

Hou Jianshe¹ Li Zhonghua¹ Xi Yufang²

1(Naval Medical Institute of PLA, Shanghai, 200433, China)

2(College of Biosystem Engineering and Food Science of Zhejiang University, Hangzhou, 310029, China)

ABSTRACT Compared with leeks of water preserving, control leeks lost water swiftly, therefore, suffered from severe water stress, and chlorophyll content and Hue angle value were significantly reduced. The content of antioxidant carotene and ascorbic acid of leeks was also reduced, activities of antioxidation enzyme especially SOD(superoxide dismutase) and CAT (catalase) was also decreased, and accumulation in H_2O_2 and MDA(malondialdehyde) was promoted by water stress. It can be concluded that postharvest water stress accelerated senescence of leeks during cold storage, the mechanism was related to promoted maladjustment of active oxygen metabolism and membrane lipid peroxidation by water stress.

Key words leeks, water stress, cold storage, senescence, active oxygen

信息窗

英国公司研制出烃类混合物保鲜法

英国一家生物工艺公司研制出一种能使番茄、辣椒、梨、葡萄等蔬果贮藏寿命延长1倍的“天然可食保鲜剂”。它采用一种复杂的烃类混合物。在使用时, 将其溶于水中成溶液状态, 然后将需保鲜的蔬果浸泡在溶液中, 使蔬果表面很均匀地涂上一层液剂。这样就大大降低了氧的吸收量, 使蔬果所产生的 CO_2 几乎全部排出。因此, 保鲜剂的作用, 酷似给蔬果施了“麻醉药”, 使其处于休眠状态。

行业动态

圆石藻粉饼干研制成功

一种以圆石藻粉为基础原料, 采用科学配方与工艺加工而成的高营养富钙圆石藻粉饼干, 由中盐制盐工程技术研究院与天津科技大学食品工程与生物技术学院联合研制成功。饼干是深受大众喜爱的方便食品, 也是补充钙、铁、 V_D 等营养素的良好载体, 而钙是人体必需的矿物质元素之一。有资料显示, 受饮食习惯的影响, 我国当前各年龄层的人普遍缺钙, 尤其是妇女、儿童和老年人, 缺钙率约为 50%。而人体中钙不足会引起多种疾病, 如佝偻病、骨质疏松等, 每天补充体内所需的钙不但可以预防、治疗与之相关的疾病, 还可以延缓人体衰老, 增进健康。

圆石藻是一种光能自养单细胞浮游藻类, 藻细胞外附一层含钙量很高的球石粒, 钙含量可达 80% 以上, 占细胞干重的 15% 以上, 容易与人体中的生物活性物质结合, 提高人体的吸收利用率, 是一种安全的新型高效补钙剂。另外, 圆石藻还富含蛋白质、 $\omega-3$ 高度不饱和脂肪酸等功能物质, 同时, 还含有对人体有益的镁、铁、铜等微量元素。