

采后 1-MCP 和乙烯利处理对茭白呼吸代谢及细胞结构的影响

王伟华¹, 姜丽¹, 王利斌¹, 罗海波², 何雄³, 郁志芳¹

(1. 南京农业大学食品科技学院, 江苏南京 210095) (2. 南京师范大学金陵女子学院, 江苏南京 210097)

(3. 浙江医药高等专科学校食品学院, 浙江宁波 315100)

摘要: 为探索茭白采后衰老的调控机制, 研究了采后 10 $\mu\text{L/L}$ 1-甲基环丙烯 (1-MCP) 和 1.25 mg/L 乙烯利 (ET) 处理对茭白常温 (25 $^{\circ}\text{C}$) 贮藏期间呼吸代谢和细胞超微结构的影响。结果显示, 1-MCP 处理显著抑制了茭白贮藏期间色差 L、a* 值和 b* 值和失重率的上升; 呼吸强度和还原糖含量显著低于对照; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性在贮藏第 1 d 高于对照, 其余贮藏时间低于对照, 琥珀酸脱氢酶 (SDH) 和过氧化物酶 (POD) 活性在整个贮藏期间低于对照而细胞色素 c 氧化酶 (CCO) 活性高于对照, 维持较低的相对电导率和丙二醛 (MDA) 含量; 贮藏 6 d 后细胞壁完整、线粒体清晰。乙烯利处理对呼吸和活性氧相关代谢与 1-MCP 处理有相反效果。以上结果表明, 采后 1-MCP 处理可显著抑制茭白采后呼吸代谢和活性氧产生, 从而有效保持能量代谢平衡和细胞结构的完整性, 延缓茭白组织的衰老和品质劣变。

关键词: 茭白; 1-甲基环丙烯 (1-MCP); 呼吸代谢; 酶活; 活性氧; 细胞壁结构

文章编号: 1673-9078(2017)12-129-136

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.021

Effects of 1-Methyleylepropene and Ethylene Treatments on the Respiratory Metabolism and Cell Structure of Postharvest *Zizania latifolia*

WANG Wei-hua¹, JIANG Li¹, WANG Li-bin¹, LUO Hai-bo², HE Xiong³, YU Zhi-fang¹

(1. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2. Jinling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

(3. Department of Food Science, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China)

Abstract: In order to explore the possible mechanism of postharvest senescence in *Zizania latifolia*, the effects of 10 $\mu\text{L/L}$ 1-methyleylepropene (1-MCP) and 1.25 mg/L ethylene (ET) treatments on the respiratory metabolism and cell structure associated with senescence in *Z. latifolia* stored at 25 $^{\circ}\text{C}$ for 6 days were investigated. The results showed that the 1-MCP treatment significantly inhibited the increase of L, a*, b* value and weight loss of *Z. latifolia*, while the respiratory intensity and reducing sugar content were significantly lower than those in the control. The superoxide dismutase (SOD) activity in samples treated with 1-MCP was significantly induced after 1 day storage but reduced its activity during the remainder storage period. 1-MCP treatment also promoted the cytochrome c oxidase (CCO) activity, while inhibited succinate dehydrogenase (SDH) and peroxidase (POD) activities compared with the control, which resulted in a relatively low relative leakage rate and malondialdehyde (MDA) content. After 6 days storage at 25 $^{\circ}\text{C}$, the integrity of cell structure was still maintained. Compared with 1-MCP treatment, ET treatment had the opposite effects on respiratory and reactive oxygen species (ROS) metabolism. These results suggested that 1-MCP treatment could significantly inhibit the respiratory metabolism and ROS production, maintain the energy metabolism balance and cell structural integrity, and then retard the postharvest senescence of *Z. latifolia*.

Key words: *Zizania latifolia*; 1-methyleylepropene; respiratory metabolism; enzyme activity; reactive oxygen species; cell structure

收稿日期: 2017-07-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31401612); 浙江省自然科学基金项目 (LY14C200005); 浙江省教育厅科研项目 (Y201432415)

作者简介: 王伟华 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 采后生物学

通讯作者: 罗海波 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 果蔬采后生物学与处理技术

茭白是禾本科植物菰的嫩茎秆被菰黑粉菌感染后不断膨大而成的纺锤状肉质茎, 别名茭笋、高笋、高瓜和菰首等, 为中国传统特产水生蔬菜, 种植面积广泛, 具有较高的经济价值和社会效益^[1,2]。然而, 茭白主要集中在 5~10 月的高温季节采收, 常温下极易出现失水萎蔫、茭壳变黄、肉质木纤维化和组织发糠

空心等衰老现象,商品价值下降,常温下货架寿命仅能维持 2~3 d^[3,4]。因此,探索茭白采后衰老机理并应用保鲜处理技术调控茭白采后衰老进程从而抑制其品质劣变延长贮藏期成为科研人员研究的重要课题。

蔬菜采后衰老是多种内外因素所引发和诱导的一种主动且极其复杂的生理生化变化过程,其中呼吸代谢变化导致的能量代谢平衡失调是这种过程早期的表现形式和基本特征,而细胞膜劣变在蔬菜采后衰老中可能起诱发作用^[5]。罗海波等^[6]研究了茭白冷藏期间蛋白质表达谱的变化,发现糖类等物质代谢加速、能量代谢平衡失调、活性氧清除能力减弱及细胞结构解体可能是导致茭白采后衰老的重要原因。Jiang 等^[7]报道指出,蔬菜在采后衰老期间常伴随着物质转化、呼吸链组分和呼吸代谢途径改变,细胞因能量亏损而出现功能紊乱和结构解体,最终导致细胞死亡。李文文等^[8]研究表明,能量代谢显著影响采后莲雾絮状绵软进程,0.01%秋水仙碱处理可保持较高的 SDH 和 CCO 活性,减缓贮藏后期 ATP 含量和能荷水平的下降,使果实维持较好的能量状态,延缓衰老。维持适当的呼吸代谢水平可保持细胞内能量平衡及其正常生命活动,从而延缓品质劣变和延长采后贮运货架期。

乙烯是一种植物内源激素,在果蔬采后成熟衰老过程中发挥重要生理作用,控制乙烯的生物合成可有效调控果蔬采后成熟衰老,是延长果蔬贮藏保鲜期的重要途径^[9]。1-甲基环丙烯(1-MCP)是一种非常有效的乙烯产生和乙烯受体抑制剂,可以很好地与乙烯受体结合使乙烯丧失与其受体结合的机会,抑制乙烯诱导的一系列生理生化反应,从而延缓果蔬采后衰老进程,保持果蔬良好品质,在果蔬采后保鲜贮藏中得到广泛应用^[10]。研究表明,1-MCP 处理能有效抑制猕猴桃^[11]、苹果^[12]、梨^[13]、柑橘^[14]、西兰花^[15]和茭白^[16]等果蔬采后乙烯合成,阻止或延缓乙烯发挥作用,提高果蔬贮藏期品质和延长货架期。目前关于 1-MCP 和乙烯调控茭白采后衰老机制的研究报道较少。

本实验研究 1-MCP 和乙烯处理对茭白采后常温(25 °C)贮藏期间衰老相关呼吸代谢及细胞超微结构的影响,以期阐明 1-MCP 和乙烯调控茭白采后衰老的机制,为茭白采后贮运中的衰老调控提供理论依据和实践指导。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

供试材料茭白为 2016 年 6 月下旬成熟的安徽大别山露天茭白,采收后立即运回实验室,充分散去田间热后,挑选无病虫害、无机械损伤、无感官异常且肉质茎长短、粗细均一的茭白进行实验。

1.1.2 试剂

乙醇、戊二醛、蔗糖、甘露醇、L-半胱氨酸、三羧基氨基甲烷(Tris)、乙二胺四乙酸(EDTA)、牛血清白蛋白(BSA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)、Percoll、浓硫酸、浓盐酸、氢氧化钠、乙醚、丙酮、3,5-二硝基水杨酸(DNS)、葡萄糖、三氯乙酸(TCA)、硫代巴比妥酸、十二水合磷酸氢二钠、二水合磷酸二氢钠、二硫苏糖醇(DTT)、 β -巯基乙醇、蛋氨酸(Met)、氮蓝四唑(NBT)、核黄素、三水合醋酸钠、冰醋酸、十水合硼酸钠、硼酸、愈创木酚、过氧化氢(H₂O₂)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)、2,6-二氯酚靛酚(2,6-DCPIP)、细胞色素 C、二甲基对苯二胺、等均为分析纯(南京寿德试验器材有限公司);琥珀酸脱氢酶(SDH)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 仪器与设备

MUL-9000 超纯水系统(南京总声纯水设备有限公司,南京);DJ300 精密电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,上海);日立 H-7650 透射电子显微镜(上海冉超光电科技有限公司,上海);CheckMate 3 便携式顶空分析仪(PBI Dansensor,丹麦);AJ-30i 高速冷冻离心机(Beckman 公司,美国);OptimaL-100XP 超速冷冻离心机(Beckman 公司,美国);HH-6 数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司,常州);XW-80A 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司,上海);DDS-307 电导率仪(上海康仪仪器有限公司,上海);WFJ UV-2802 PC 紫外-可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司,上海)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品处理

将挑选好的茭白用自来水清洗,立即浸泡在 1.25 mg/L 乙烯利溶液 30 min 后密封 19.5 h 或在 10 μ L/L 1-MCP 环境中密封 20 h,对照直接密封 20 h,室温下晾干,按每样品重 3 kg 用编织袋挽口包装,置 25 °C 下贮藏 0, 1, 3 和 6 d,取样进行相关指标测定(或用液氮速冻后置-70 °C 的冰箱备用)。

1.3.2 色泽测定

用美能达 CR-200 型手持色差仪测定茭白的 CIE L、a*、b*值。L 表示色明度,L=0 为黑色,L=100 为白色;a+表示红色程度,a-表示绿色程度;b+表示黄

色程度, b-表示蓝色程度。

1.3.3 失重率测定

采用差量法计算, 公式如下: 失重率%=(贮藏前茭白重量-贮藏后茭白重量)×100/贮藏前茭白重量

1.3.4 呼吸强度测定

用 CheckMate 3 便携式顶空分析仪测定茭白在固定体积的密闭容器中单位时间内生成 CO₂ 体积百分比, 结果换算为 mg CO₂/(kg·h)。

1.3.5 还原糖含量测定

采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定^[17]。

1.3.6 相对电导率测定

取 10 片完整茭白组织切片, 在每片切片中部用直径 6 mm 打孔器打孔, 共取 10 片小圆片, 放入盛有 20 mL 超纯水的锥形瓶中室温静置 1 h, 用 DDS-307 型电导率仪测定渗出液的电导率 L₀, 加热煮沸 5 min, 冷却后再次测定渗出液的电导率 L₁, 以(L₀/L₁)×100% 表示相对电导率。

1.3.7 丙二醛(MDA)含量的测定

采用硫代巴比妥酸法测定^[17]。

1.3.8 超氧化物歧化酶(SOD)活力测定

采用氮蓝四唑(NBT)光还原法测定^[3]。

1.3.9 过氧化物酶(POD)活力测定

采用愈创木酚法测定^[3]。

1.3.10 线粒体提取

参照 Qin 等^[18]的方法稍作修改。称取 50 g 茭白样品, 加入 100 mL 提取液(50 mM pH 7.5 Tris-HCl, 内含 0.25 M 蔗糖、0.3 M 甘露醇、1 mM EDTA、质量分数分别为 0.1% BSA、0.5% PVP-40、0.1% 半胱氨酸或 10 mM β-巯基乙醇)于 4 °C 匀浆, 然后用四层纱布过滤, 滤液在 4 °C 下 3000 r/min 离心 15 min; 取上清液在 4 °C 下 16000 r/min 离心 15 min; 将沉淀用 10 mL 洗涤液(10 mM、pH 7.2 Tris-HCl, 内含 0.25 M 蔗糖、0.3 M 甘露醇、1 mM EDTA、0.1% BSA)洗涤, 4 °C、13000 r/min 离心 15 min, 得到的沉淀即为粗线粒体, 加入 10 mL 悬浮液(10 mM、pH 7.2 Tris-HCl, 内含 0.25 M 蔗糖、0.3 M 甘露醇、1 mM EDTA)混合均匀备用。

1.3.11 琥珀酸脱氢酶(SDH)活性

采用琥珀酸脱氢酶试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定线粒体悬浮液 SDH 活性, 结果表示为 U/(g FW)。

1.3.12 细胞色素 c 氧化酶(CCO)活性

参照祝美云等^[19]的方法稍作修改。取线粒体悬浮液 0.1 mL, 加入质量分数为 0.04% 细胞色素 C 水溶液 0.2 mL, 重蒸水 2 mL。将试样在 37 °C 预热 2 min, 加入 0.5 mL 质量分数为 0.4% 二甲基对苯二胺溶液。用

秒表记下反应开始的时间, 保温 3 min, 至出现红色, 颜色在 10 min 内稳定, 于 510 nm 比色, 以每分钟吸光值变化 0.1 为 1 个活性单位, 结果表示为 U/(g FW)。

1.3.13 电子显微镜切片观察

参照宋丽丽等^[16]的方法稍做修改。取茭白中部茭肉组织, 用双面刀切成约 1 mm 薄片, 放入 4 °C、2.5%(体积分数)戊二醛溶液中固定 2~4 h, 样品用 pH 7.2、100 mmol/L 磷酸缓冲液漂洗 3 次, 每次 15 min, 2% 锇酸溶液固定 1~2 h, pH 7.2、100 mmol/L 磷酸缓冲液漂洗 3 次, 每次 15 min, 然后用梯度浓度乙醇(50%、70%、90%和 100%)进行脱水, 每个浓度处理 15 min, 纯丙酮脱水处理 20 min, 环氧树脂包埋, 梯度烘干后超薄切片(50 nm), 醋酸铀和柠檬酸铅双染色, 透射电镜观察拍照。

1.4 数据处理

试验每个处理均重复三次, 实验结果表示为平均值±标准差, 采用统计软件 SPSS 19.0 进行 ANOVA 分析(显著水平 $p < 0.05$), 用 Excel 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 茭白贮藏前后外观品质的变化



图 1 1-MCP 和乙烯利处理对茭白贮藏前后外观品质的影响
Fig.1 Effects of 1-MCP and ET on the appearance of *Z. latifolia* after 6 days storage at 25 °C

注: a, CK 0 d; b, CK 6 d; c, 1-MCP 6 d; d, ET 6 d。

由图 1 可见, 对照茭白贮藏 0 d 时外观品质较好, 茭壳翠绿、茭肉表皮和内部色泽洁白、质地脆嫩; 常温下贮藏 6 d 后茭壳已严重发黄, 茭肉表皮有褐变发黑现象, 切开后茭肉发黄且有部分空心发糠, 底部切口处有腐败迹象。1-MCP 处理茭白贮藏 6 d 后茭壳有发黄现象, 茭肉表皮和内部色泽较好, 切片无空心发糠现象。乙烯处理茭白贮藏 6 d 后部分茭壳已发黄, 尽管茭壳外观品质略好于对照, 但茭肉表面有褐变发

黑现象, 切开后茭肉发黄且有空心发糠, 与对照相比程度更严重。

2.2 色差 L、a*和 b*值的变化

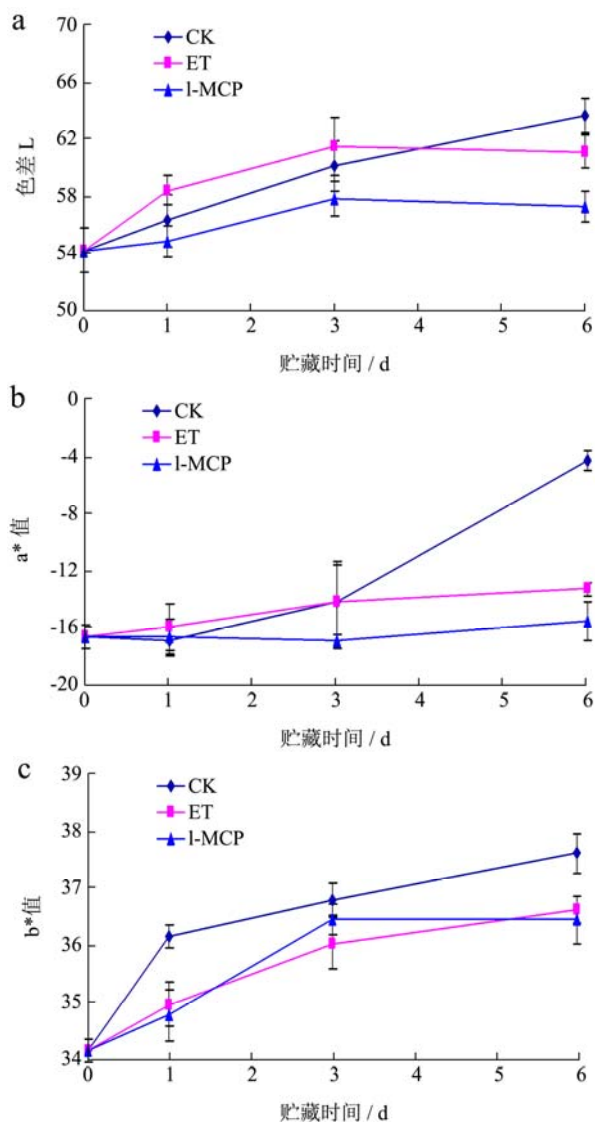


图2 1-MCP和乙烯利对茭白贮藏期间色差L(a)、a*(b)和b*(c)值的影响

Fig.2 Effects of 1-MCP and ET on L (a), a*(b) and b* (c) values of *Z. latifolia* during storage at 25 °C

由图 2a、b 和 c 可见, 茭白贮藏期间色差 L 值、a*值和 b*值均逐渐上升, 表明茭白贮藏期间绿色下降和黄色上升, 与外观品质观察结果一致(图 1)。1-MCP 处理显著抑制茭白 L 值、a*值和 b*值上升; 乙烯利处理整体上促进 L 值上升, 但抑制 a*值和 b*值上升。

2.3 失重率和还原糖含量的变化

由图 3a 可见, 茭白贮藏期间失重率逐渐上升, 1-MCP 和乙烯利处理茭白贮藏 6 d 时失重率分别为

8.21%和 12.83%, 显著低于对照的 14.91%。由图 3b 可见, 茭白贮藏期间还原糖含量先下降后上升, 1-MCP 处理显著降低了茭白还原糖含量, 乙烯利处理在贮藏后期对还原糖上升有促进作用。

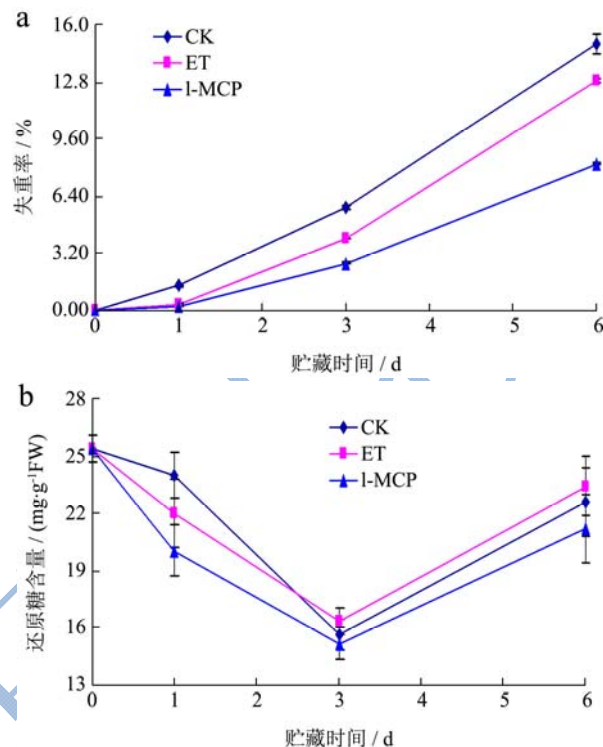
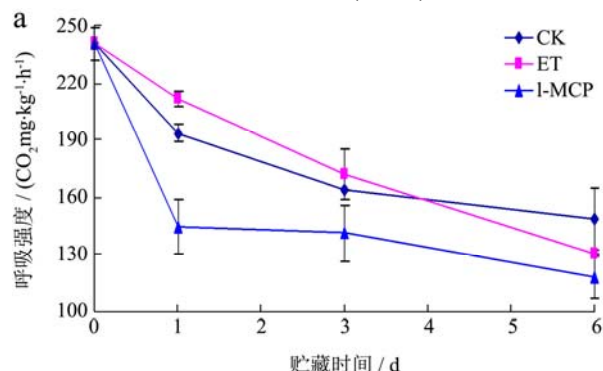


图3 1-MCP和乙烯利对茭白贮藏期间失重率(a)和还原糖含量(b)的影响

Fig.3 Effects of 1-MCP and ET on weight loss (a) and reducing sugar content(b) of *Z. latifolia* during storage at 25 °C

2.4 呼吸强度和相对电导率的变化

由图 4a 可见, 茭白贮藏期间呼吸强度逐渐下降, 1-MCP 处理茭白呼吸强度在整个贮藏期间均显著低于对照, 乙烯利处理茭白在贮藏前 3 d 高于对照, 贮藏 6 d 时显著低于对照。茭白贮藏期间相对电导率持续下降, 1-MCP 处理在贮藏 3 d 时高于对照, 贮藏 3 d 后低于对照; 乙烯利处理除贮藏第 3 d 低于对照外, 其余贮藏时间均显著高于对照(图 4b)。



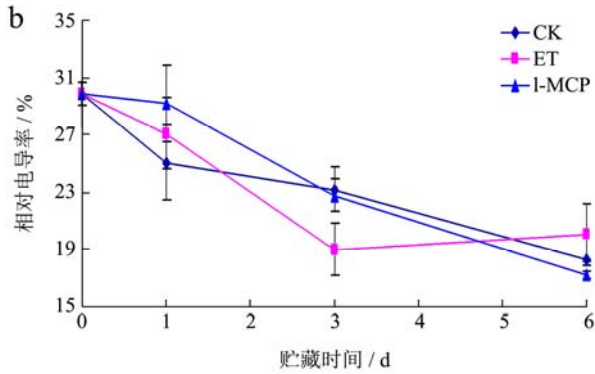


图4 1-MCP和乙烯利对茭白贮藏期间呼吸强度(a)和相对电导率(b)的影响

Fig.4 Effects of 1-MCP and ET on respiratory rate(a) and relative leakage rate(b) of *Z. latifolia* during storage at 25 °C

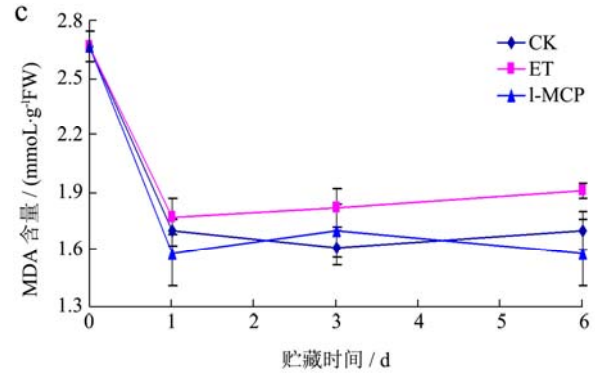


图5 1-MCP和乙烯利对茭白贮藏期间SOD(a)、POD(b)活性及MDA(c)含量的影响

Fig.5 Effects of 1-MCP and ET on SOD(a) and POD(b) activities, and MDA content(c) of *Z. latifolia* during storage at 25 °C

2.5 SOD、POD 活性及 MDA 含量的变化

由图 5a 可见，茭白贮藏期间 SOD 活性有先下降后上升的趋势，1-MCP 处理显著提高了贮藏 1 d 时 SOD 活性，随后的贮藏过程中显著低于对照；乙烯利处理在贮藏前 3 d 低于对照但无显著差异，贮藏 6 d 时显著高于对照。茭白贮藏期间 POD 活性持续上升，贮藏第 3 d 达到最大值，1-MCP 处理显著抑制了贮藏前 3 d POD 活性上升，贮藏 6 d 时达到最大值且与对照无显著差异；乙烯利处理显著促进了 POD 活性上升，贮藏 1 d 时即达到最大值(图 5b)。茭白贮藏期间 MDA 含量在贮藏 1 d 时急剧下降，随后无显著变化，1-MCP 处理 MDA 含量在贮藏第 3 d 高于对照，其余贮藏时间均低于对照；乙烯利处理 MDA 含量在整个贮藏期间均显著高于对照(图 5c)。

2.6 SDH 和 CCO 活性的变化

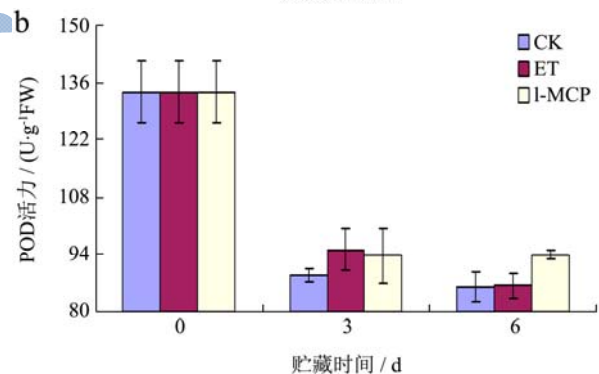
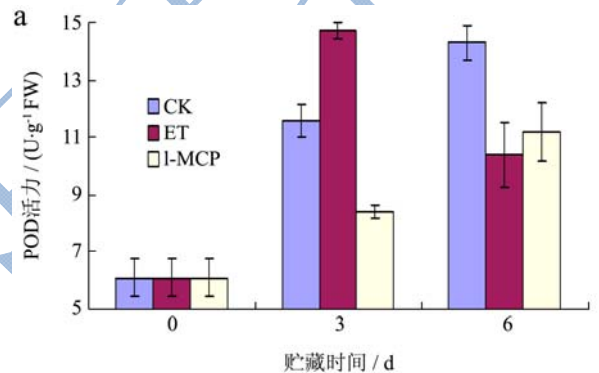
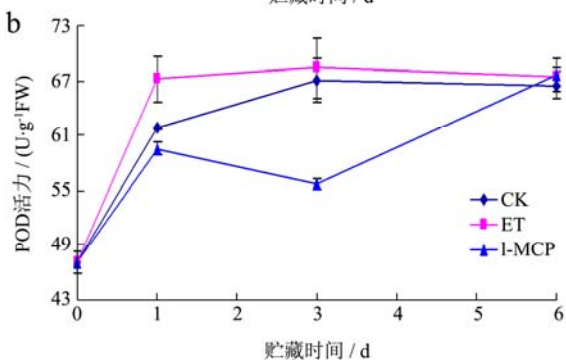
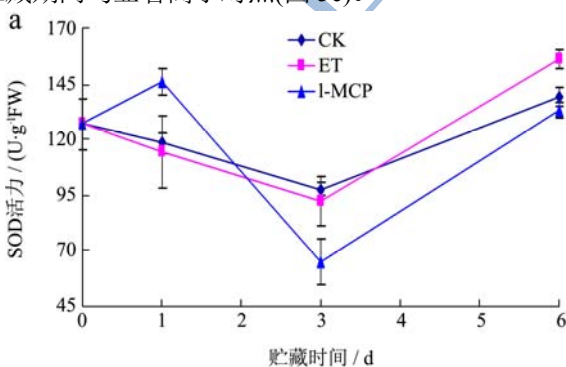


图6 1-MCP和乙烯利对茭白贮藏期间SDH(a)和CCO(b)活性的影响

Fig.6 Effects of 1-MCP and ET on SDH(a) and CCO(b) activities of *Z. latifolia* during storage at 25 °C

由图 6a 可见，茭白常温贮藏期间线粒体琥珀酸脱氢酶(SDH)活性持续上升，1-MCP 处理显著抑制了 SDH 活性上升，乙烯利处理在贮藏前 3 d 显著提高了 SDH 活性，贮藏 6 d 时显著抑制了 SDH 活性。线粒体细胞色素 C 氧化酶(CCO)活性在贮藏期间呈下降的趋势，1-MCP 处理显著提高了 CCO 活性，乙烯利处理 CCO 活性在贮藏前 3 d 显著高于对照，贮藏 6 d 时



与对照无显著差异(图 6b)。

2.7 细胞超微结构的变化

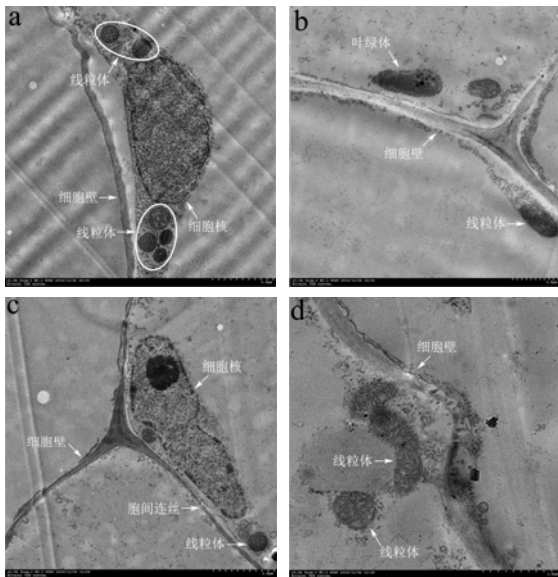


图 7 1-MCP 和乙烯利处理对茭白贮藏前后超微结构的影响

Fig.7 Effects of 1-MCP and ET on the cell ultrastructure of *Z. latifolia* after 6 days storage at 25 °C

注: a, CK 0d; b, CK 6d; c, 1-MCP 6d; d, ET 6d。

由图 7a 和 b 可见, 茭白在贮藏 0 d 时细胞结构完整, 细胞壁、细胞核、线粒体清晰可见, 同时线粒体数量较多; 贮藏 6 d 后细胞壁有降解现象, 线粒体发生衰变、清晰度下降且数量减少。1-MCP 处理茭白贮藏 6 d 后细胞结构完整, 细胞核、线粒体、胞间连丝清晰可见, 但线粒体数量已显著减少, 细胞结构介于新鲜组织和对照贮藏 6 d 时观察结果之间(图 7c)。乙烯利处理茭白贮藏 6 d 后细胞壁有显著降解现象, 观察过程中已极难发现线粒体, 观察到的线粒体已变得模糊不清, 大小和结构均发生改变, 甚至有破裂解体现象(图 7d)。

3 讨论

衰老是蔬菜生命周期的最后阶段, 是在正常环境下自然地发生机能衰退、逐渐终止生命活动的过程^[5]。衰老原因很复杂, 受内外多种因素调控, 其中能量供应是维持一切生命活动的基础, 能量代谢平衡失调可能是诱发蔬菜采后细胞死亡和衰老的重要因素, 而呼吸代谢是细胞生命活动所需能量的主要来源^[7]。本实验中, 茭白采后呼吸强度较大并在常温贮藏期间迅速下降, 1-MCP 处理显著降低了茭白呼吸强度和其他生理生化变化, 从而延缓茭白采后衰老, 与祝美云等^[19]和 Kan 等^[20]对采后桃果实呼吸代谢的研究结果相似。与对照相比, 尽管乙烯利处理促进了茭白采后呼吸强

度, 能量供应相对增加, 但同时也显著促进了其他生理生化代谢过程和能量消耗, 这可能导致了能量代谢平衡失调而加速衰老。

蔬菜呼吸代谢底物很多, 糖类是绝大多数蔬菜主要的底物和供能物质^[21]。蔬菜采后还原糖含量受多糖水解、蔗糖合成及还原糖消耗与转化等影响, 其含量变化在一定程度上反应了糖的利用水平。罗海波等^[22]研究表明, 茭白采后衰老期间糖基水解酶家族 17 表达显著上调, 贮藏 3 d 和 5 d 时分别是贮藏 0 d 时的 20.4 倍和 46.8 倍, 同时总糖含量持续下降, 多糖水解加速。本实验中, 茭白采后常温贮藏期间还原糖含量呈先下降后上升的变化趋势可能是茭白采后贮藏初期还原糖因呼吸代谢和纤维素合成等消耗较多而多糖水解不足, 贮藏后期呼吸代谢和纤维素合成减缓, 还原糖消耗较少但多糖水解增加, 因此还原糖含量上升。1-MCP 处理显著降低了茭白还原糖含量, 同时呼吸强度显著低于对照, 表明 1-MCP 处理可能抑制了多糖水解和还原糖消耗, 维持相对高的能量物质基础。乙烯利处理后还原糖含量在贮藏初期低于对照, 呼吸强度显著高于对照, 表明乙烯利处理可能加速了多糖水解和还原糖消耗, 促进衰老进程。

有氧呼吸是蔬菜进行呼吸作用的主要形式, 线粒体是细胞进行有氧呼吸的主要场所^[23]。SDH 和 CCO 均存在于线粒体内膜上, 是线粒体电子传递呼吸链上的标志酶, 分别位于呼吸链的起始端和最末端, 在有氧呼吸代谢中发挥重要作用^[20]。研究表明, SDH 是连接氧化磷酸化与电子传递的枢纽之一, 可为真核细胞线粒体和多种原核细胞需氧和产能的呼吸链提供电子, 其活性一般可以作为评价三羧酸循环运行程度的指标^[24]。CCO 是呼吸链末端酶, 其活性大小与生物体组织的耗氧率呈正相关, 能反映生物体的有氧呼吸代谢水平^[25]。SDH 和 CCO 活性大小反应了线粒体功能状态。Kan 等^[20]研究表明, 桃果实在发育成熟后期 SDH 和 CCO 活性均显著下降, 导致细胞能量亏损进而加速细胞衰老。陈发河等^[26]研究发现, 能量亏缺与枇杷果实木质化劣变密切相关, 25 μL/L NO 处理可显著抑制贮藏中后期 SDH、CCO、H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性降低和 ATP、ADP 含量下降, 维持较高的能量水平, 从而减轻果实木质化劣变发生, 延长贮藏期。本实验中, 茭白常温贮藏期间 SDH 活性上升和 CCO 活性下降, 表明茭白采后衰老过程中三羧酸循环加强而氧化磷酸化减弱, 虽然可以利用氧但 ATP 合成减少, 最终导致能量亏损。1-MCP 处理显著抑制了 SDH 活性和提高了 CCO 活性, 表明 1-MCP 处理后茭白三羧酸循环受到一定程度的抑制但氧化磷

酸化水平提高,氧的利用低于对照但 ATP 合成高于对照,进一步印证了前面关于 1-MCP 处理维持了能量代谢平衡延缓茭白采后衰老的推论。乙烯利处理显著提高了贮藏初期 SDH 活性和 CCO 活性,贮藏 6 d 时显著抑制了 SDH 活性,对 CCO 活性无显著影响,表明乙烯利处理显著促进了茭白采后贮藏初期能量代谢进程,但对贮藏后期能量代谢有抑制作用,这与乙烯利处理对茭白采后呼吸强度的影响一致。

活性氧自由基是细胞有氧呼吸代谢过程中的副产物,约 1%呼吸代谢总氧消耗会转变成活性氧产物如超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)和羟基自由基($\cdot OH$)等^[5]。研究表明, $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的积累能诱发细胞膜的脂质过氧化反应,导致丙二醛(MDA)含量积累和细胞膜透性增加甚至降解,进一步诱发细胞程序性死亡^[27]。植物在长期进化过程中形成了一套复杂而完善的抗氧化保护系统,通过调控活性氧自由基的积累与清除使细胞免受伤害,主要有两类:一是酶类抗氧化系统,主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等,植物在衰老或受到外界环境胁迫时都会诱导其活性;二是非酶类抗氧化系统,主要有维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽(GSH)等^[28]。在酶类抗氧化系统中,SOD 的主要功能是催化 $O_2^{\cdot-}$ 歧化为 H_2O_2 ,而 POD、CAT 和 APX 可催化 H_2O_2 分解为分子氧和水,从而使细胞免受氧化伤害^[29]。本实验中,1-MCP 处理显著提高了贮藏 1 d 时 SOD 活性,随后的贮藏过程中显著低于对照,同时抑制了 POD 活性上升,推测 1-MCP 处理后茭白对衰老的胁迫响应减弱,细胞受到的活性氧伤害程度降低,维持相对低的相对电导率和 MDA 含量(图 5c)及细胞膜完整性(图 7),这一结果与宋丽丽等^[16]采用 0.5 $\mu L/L$ 1-MCP 处理脱壳茭白能有效维持细胞结构完整性相一致。乙烯利处理后茭白 SOD 活性在贮藏前 3 d 低于对照,贮藏 6 d 时显著高于对照,POD 活性在整个贮藏期间均显著高于对照,表明在贮藏前期细胞受到的活性氧伤害程度加剧,相对电导率和 MDA 含量相对较高,促进了细胞膜降解。

4 结论

茭白采后衰老与呼吸代谢及其伴随的能量代谢、活性氧代谢和细胞结构降解密切相关。1-MCP 处理可显著抑制茭白采后呼吸代谢,抑制 SDH 活性和提高 CCO 活性进而保持能量平衡,有效保持细胞结构的完整性从而延缓茭白采后衰老。1-MCP 处理延缓茭白采后衰老可能是其抑制了呼吸代谢和活性氧产生,但仍然能维持能量代谢平衡,保持细胞结构的完整性。

参考文献

- [1] Jose R C, Goyari S, Louis B, et al. Investigation on the biotrophic interaction of *Ustilago esculenta* on *Zizania latifolia* found in the Indo-Burma biodiversity hotspot [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2016, 98(9): 6-15
- [2] Yan N, Wang X, Xu X, et al. Plant growth and photosynthetic performance of *Zizania latifolia* are altered by endophytic *Ustilago esculenta* infection [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2013, 83(6): 75-83
- [3] Luo H, Jiang L, Zhang L, et al. Quality changes of whole and fresh-cut *Zizania latifolia* during refrigerated (1 °C) storage [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 5(4): 1411-1415
- [4] 凌建刚,李娇,康孟利,等.弱酸性电位水在茭白防腐保鲜中的应用[J].*食品科学*,2015,36(22):250-254
LING Jian-gang, LI Jiao, KANG Meng-li, et al. Application of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) in preservation of *Zizania latifolia* stems [J]. *Food Science*, 2015, 36(22): 250-254
- [5] 李合生.现代植物生理学(第 3 版)[M].北京:高等教育出版社,2012
- [6] 罗海波,姜丽,包永华,等.茭白冷藏期间蛋白质表达谱的变化[J].*农业工程学报*,2014,30(1):285-292
LUO Hai-bo, JIANG Li, BAO Yong-hua, et al. Changes of protein profile in *Zizania latifolia* during cooling storage [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2014, 30(1): 285-292
- [7] Jiang Y, Jiang Y, Qu H, et al. Energy aspects in ripening and senescence of harvested horticultural crops [J]. *Stewart Postharvest Review*, 2007, 3(2): 5
- [8] 李文文,吴光斌,陈发河.秋水仙碱处理对采后莲雾果实在冷藏期间品质、活性氧代谢和能量代谢的影响[J].*食品科学*,2016,37(16):272-279
LI Wen-wen, WU Guang-bin, CHEN Fa-he. Effects of inducer treatment on physiological quality, active oxygen and energy metabolism of postharvest wax apples during cold storage [J]. *Food Science*, 2016, 37(16): 272-279
- [9] Nilsson T. Effects of ethylene and 1-MCP on ripening and senescence of European seedless cucumbers [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2005, 36(2): 113-125
- [10] Li L, Lichter A, Chalupowicz D, et al. Effects of the ethylene-action inhibitor 1-methylcyclopropene on postharvest quality of non-climacteric fruit crops [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 111(1): 322-329

- [11] Lim S, Han S H, Kim J, et al. Inhibition of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta*) ripening by 1-methylcyclopropene during cold storage and anticancer properties of the fruit extract [J]. Food Chemistry, 2016, 190: 150-157
- [12] Rodrigo T F, Brackmann A, Anese R D O, et al. Effect of dynamic controlled atmosphere monitored by respiratory quotient and 1-methylcyclopropene on the metabolism and quality of 'Galaxy' apple harvested at three maturity stages [J]. Food Chemistry, 2017, 222(1): 84-93
- [13] Yu J, Wang Y. The combination of ethoxyquin, 1-methylcyclopropene and ethylene treatments controls superficial scald of 'd'Anjou' pears with recovery of ripening capacity after long-term controlled atmosphere storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2017, 127: 53-59
- [14] Estables-Ortiz B, Romero P, Ballester A-R, et al. Inhibiting ethylene perception with 1-methylcyclopropene triggers molecular responses aimed to cope with cell toxicity and increased respiration in citrus fruits [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 103: 154-166
- [15] Xu F, Wang H, Tang Y, et al. Effect of 1-methylcyclopropene on senescence and sugar metabolism in harvested broccoli florets [J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 116: 45-49
- [16] 宋丽丽, 郝海燕, 房祥军, 等. 1-MCP 处理对脱壳茭白木纤维化与细胞结构的影响[J]. 农业机械学报, 2010, 41(1): 111-116
SONG Li-li, GAO Hai-yan, FANG Xiang-jun, et al. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on lignification and cell ultra structure of peeled water bamboo shoot [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Machinery, 2010, 41(1): 111-116
- [17] Luo H, Jiang L, Bao Y, et al. Effect of chitosan/nano-chitosan composite coating on browning and lignification of fresh-cut *Zizania latifolia* [J]. Journal of Food Quality, 2013, 36(6): 426-431
- [18] Qin G, Wang Q, Liu J, et al. Proteomic analysis of changes in mitochondrial protein expression during fruit senescence [J]. Proteomics, 2009, 9(17): 4241-4253
- [19] 祝美云, 白欢, 梁丽松, 等. 冷锻炼处理减轻低温贮藏桃果实冷害的能量代谢机理[J]. 农业工程学报, 2012, 28(23): 257-264
ZHU Mei-yun, BAI Huan, LIANG Li-song, et al. Mechanism of energy metabolism on cold acclimation treatment for alleviating chilling injury of peach fruit during low temperature storage [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(23): 257-264
- [20] Kan J, Wang H, Jin C, et al. Changes of reactive oxygen species and related enzymes in mitochondria respiratory metabolism during the ripening of peach fruit [J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(1): 138-146
- [21] 田世平, 罗云波, 王贵禧. 园艺产品采后生物学基础[M]. 北京: 科学出版社, 2011
TIAN Shi-pei, LUO Yun-bo, WANG Gui-xi. Horticultural products post-harvest biology [M]. Beijing: Science Press, 2011
- [22] 罗海波, 姜丽, 陈伟, 等. 完整和鲜切茭白常温贮藏期间的比较蛋白质组学研究[J]. 食品科学, 2017(Epub ahead of print)
LUO Hai-bo, JIANG Li, CHEN Wei, et al. Comparative proteomics study on whole and fresh-cut *Zizania latifolia* during storage at room temperature [J]. Food Science, 2017(Epub ahead of print)
- [23] Qin G, Meng X, Wang Q, et al. Oxidative damage of mitochondrial proteins contributes to fruit senescence: a redox proteomics analysis [J]. Journal of Proteome Research, 2009, 8(5): 2449-2462
- [24] Li L, Lv F, Guo Y, et al. Respiratory pathway metabolism and energy metabolism associated with senescence in postharvest Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) florets in response to O₂/CO₂ controlled atmospheres [J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 111(1): 330-336
- [25] Yang Z, Cao S, Su X, et al. Respiratory activity and mitochondrial membrane associated with fruit senescence in postharvest peaches in response to UV-C treatment [J]. Food Chemistry, 2014, 161(10): 16-21
- [26] 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
CHEN Fa-he, ZHANG Mei-zi, WU Guang-bin. Study of lignification's delaying and its relationship with energy metabolism in loquat fruits after nitric oxide fumigation [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47(12): 2425-2434
- [27] Fadhlou M, Couture P. Combined effects of temperature and metal exposure on the fatty acid composition of cell membranes, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in yellow perch (*Perca flavescens*) [J]. Aquatic Toxicology, 2016, 180(11): 45-55
- [28] Al-Qurashi A D, Awad M A, Mohamed S A, et al. Postharvest chitosan, trans-resveratrol and glycine betaine dipping affect quality, antioxidant compounds, free radical scavenging capacity and enzymes activities of 'Sukkari' bananas during

shelf life [J]. Scientia Horticulturae, 2017, 219(5): 173-181

[29] Zhao J, Xie X, Shen X, et al. Effect of sunlight-exposure on antioxidants and antioxidant enzyme activities in 'd'Anjou' pear in relation to superficial scald development [J]. Food Chemistry, 2016, 210(11): 18-25

