

高氧处理抑制草莓果实采后腐烂与抗病性诱导的关系

陈学红^{1,2}, 郑永华^{1*}, 杨震峰¹, 曹士锋¹, 李娜¹, 马素娟¹

(1. 南京农业大学食品科技学院, 南京 210095; 2. 徐州工程学院食品工程系, 徐州 221008)

摘要: 为探索高氧处理抑制果实腐烂与抗病性诱导的关系, 本试验研究了 60% 和 100% O₂ 及空气处理对草莓果实在 5℃ 15 d 冷藏及后续 20℃ 空气中 1 d 货架存放期间果实腐烂和抗病相关酶活性变化的影响。结果表明, 高氧处理能有效抑制草莓冷藏期间果实腐烂的发生, 诱导总酚含量的增加, 提高苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶、几丁质酶、β-1, 3-葡聚糖酶活性。经高氧处理冷藏 15 d 后的草莓果实在转移至 20℃ 空气中 1 d 货架存放期间, 果实腐烂仍受到明显抑制, 同时保持较高的总酚含量和较高的苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶活性。100% O₂ 对腐烂的抑制作用大于 60% O₂ 处理。这些结果表明, 高氧抑制草莓果实的腐烂与抗病相关酶活性的升高密切相关, 抗病性诱导是高氧抑制草莓果实腐烂的重要原因。

关键词: 草莓; 高氧处理; 果实腐烂; 诱导抗病性; 总酚

中图分类号: S668.4; TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2006)10-0208-04

陈学红, 郑永华, 杨震峰, 等. 高氧处理抑制草莓果实采后腐烂与抗病性诱导的关系[J]. 农业工程学报, 2006, 22(10): 208-211.

Chen Xuehong, Zheng Yonghua, Yang Zhenfeng, et al. Inhibition of postharvest decay in relation to induced disease resistance of strawberry fruit treated with high oxygen[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(10): 208-211. (in Chinese with English abstract)

0 引言

草莓 (*Fragaria ananassa* Duch.) 果实组织娇嫩, 易受机械损伤和灰霉菌等病原真菌的侵染而腐烂变质。如何控制草莓在贮运过程中病原菌的侵染, 减少采后腐烂损失, 是草莓生产中迫切需要解决的一个重要问题。使用化学杀菌剂是果蔬采后病害防治的主要方法, 但长期使用会使病菌产生抗药性, 对公众健康造成危害, 因此发达国家都在致力于研究更安全有效的果蔬防腐保鲜新技术, 应用各种物理和生化手段诱导提高采后果蔬的抗病性, 控制果蔬贮藏病害的发生, 已成为国际上果蔬贮运保鲜研究的热点^[1]。有研究表明, 果实采后用短波紫外线、拮抗菌和热水^[2-5]等处理可诱导几丁质酶、β-1, 3-葡聚糖酶和苯丙氨酸解氨酶等抗病相关酶的活性, 从而提高果实抗病性, 减少果实贮藏病害的发生。

超大气高氧处理是近年来提出的一种新型果蔬防腐保鲜技术^[6]。有研究表明, 单独高氧或高氧与高二氧化碳共同处理可显著抑制草莓、越桔和杨梅^[7-10]等浆果类果实的采后腐烂。笔者研究发现, 60%~100% 高氧处理可以显著减轻草莓果实采后腐烂^[11], 但高氧处理抑制果实腐烂的机理尚不清楚。为此, 本试验研究高氧处理对草莓果实腐烂和几丁质酶、β-1, 3-葡聚糖酶及苯丙氨酸解氨酶等抗病相关酶活性的影响, 以期从诱导抗病的角度探讨高氧抑制草莓果实腐烂的机理, 为高氧气调技术在草莓果实采后贮运中的应用提供理论依据。

收稿日期: 2005-12-13 修订日期: 2006-04-17

项目基金: 国家自然科学基金资助项目(30170661)

作者简介: 陈学红(1975-), 女, 主要从事食品贮藏加工研究。南京农业大学食品科技学院, 210095

*通讯作者: 郑永华, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事农产品贮藏加工研究。南京 南京农业大学食品科技学院, 210095。

Email: zhengyh@njau.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料及处理

草莓“丰香”采摘于江苏省南京市江浦区, 于当天运回实验室。选择无机械损伤、无腐烂和成熟度一致的果实, 预冷至 5℃ 后放入玻璃瓶中, 密封后在 (5±1)℃ 下用 60%、100% O₂ 和空气气流连续处理 15 d。气流先通过蒸馏水瓶加湿, 流速为 40 mL/min, 每个处理设 3 个重复。贮藏期间每 3 d 取样 1 次进行各项指标测定。

1.2 测定方法

1.2.1 果实腐烂指数

按果实腐烂面积大小将果实划分为 4 级: 0 级—无腐烂; 1 级—果面有 1~3 个小腐烂斑点; 2 级—腐烂面积占果实面积的 25%~50%; 3 级—腐烂面积大于果实面积的 50%。按下式计算腐烂指数: 腐烂指数 = $\sum [(\text{腐烂级别} \times \text{该级果实数}) / (\text{最高腐烂级别} \times \text{总果实数})] \times 100\%$ 。腐烂指数越大, 表示果实腐烂越严重。

1.2.2 抗病相关酶活性

参照欧阳光察^[12]的方法测定苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性; 参照 Murr 和 Morris^[13]的邻苯二酚法测定多酚氧化酶 (PPO) 活性; 参照 Abeles 等^[14]的方法测定 β-1, 3-葡聚糖酶活性; 几丁质酶活性测定参照 Ohtakara^[15]的方法。酶活性均以 U/g 表示。

1.2.3 总酚含量

采用 Folin-Ciocalteu 试剂法测定, 结果以 mg/(100 g) 表示。

1.3 结果统计分析

采用 SAS6.12 进行数据处理分析。

2 结果与分析

2.1 高氧处理对草莓果实腐烂指数和 PPO 活性影响

草莓贮藏期间腐烂指数呈上升趋势。在前 3 d, 高氧处理对果实腐烂无显著影响。3 d 后, 对照果腐烂指数迅速上升, 而 60% 和 100% O₂ 处理果的腐烂指数上升缓慢(图 1a), 60% O₂ 处理果的腐烂指数显著低于对照 ($P \leq 0.05$), 100% O₂ 处理果的腐烂指数极显著低于对照果 ($P \leq 0.01$)。由此可见, 高氧处理能有效抑制草莓果实腐烂的发生。采用 60%~100% 高氧处理抑制果实采后腐烂, 这在越桔^[9]和杨梅^[10]等其他果实上也得到了证实, 但高氧处理抑制果实腐烂的机理还不清楚, 这可能是由于高氧的氧化作用对病原微生物产生直接伤害^[16]。Wszelaki 和 Mitcham^[8]研究发现, 80%~100% O₂ 处理对草莓果实腐烂的抑制作用要强于对引起草莓

果实腐烂的灰霉葡萄孢菌离体生长的抑制效果, 由此推测高氧除了对病原微生物的生长产生直接抑制作用外, 还可能对果实本身抗病性产生了影响。草莓果实在贮藏期间 PPO 活性持续上升并在第 12 d 出现峰值(图 1b)。在贮藏的前 3 d, 高氧处理对果实 PPO 活性无明显影响, 但 3 d 后, 60% 和 100% O₂ 处理果的 PPO 活性显著 ($P \leq 0.05$) 高于对照果实。PPO 参与木质素的合成和细胞壁加固, 在植物抗病防御反应中起重要作用。桃果实采后接种拮抗菌可诱导提高 PPO 活性, 同时增加果实的抗病性^[17]。本试验中, 60% 和 100% O₂ 处理在 3 d 后显著提高草莓果实的 PPO 活性, 说明高氧处理减少草莓果实腐烂与诱导果实 PPO 活性上升有密切关系。

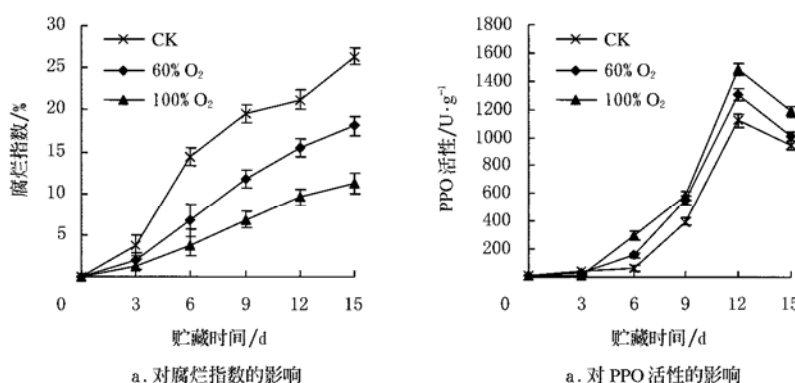


图 1 高氧处理对草莓果实腐烂指数和 PPO 活性的影响

Fig. 1 Effects of high oxygen treatments on the decay index and polyphenol oxidase(PPO) activity of strawberry fruit

2.2 高氧处理对草莓果实 PAL 活性和总酚含量的影响

草莓果实 PAL 活性和总酚含量在贮藏初期迅速上升, 并于第 6 d 时达到高峰, 然后逐渐下降。在整个试验中, 高氧处理果实的 PAL 活性和总酚含量一直显著 ($P \leq 0.05$) 高于对照果实(图 2)。由于 PAL 是多酚类物质合成的关键酶, 本试验中高氧处理果实保持较高的总酚含量, 可能是因为高氧处理促进了 PAL 活性。许多植物在受到病原菌的侵染后, PAL 活性升高并大量积累酚类物质等次生代谢物质, 用以增强自身的免疫力^[18, 19]。植物的许多重要次生代谢物质主要是通过苯丙烷类代谢途径合成的, PAL 是此途径的关键酶。采后接种拮抗菌^[3]和紫外线处理^[20]可分别诱导葡萄柚和苹果果实 PAL 活性的升高, 同时抑制贮藏病害的发生。桃果实在采后接种拮抗菌也诱导提高 PAL 活性, 同时增加果实的抗病性^[17]。采用低浓度外源 MeJA 处理可显著提高菜用大豆 PAL 活性, 促进豆类木质素含量的上升, 减少豆类腐烂的发生^[21]。本试验中, 60% 和 100% O₂ 处理诱导草莓果实 PAL 活性的上升和总酚含量的提高, 并且在整个贮藏期间总酚含量一直高于对照水平。这说明高氧处理减少草莓果实腐烂与诱导果实 PAL 活性的上升和总酚含量的提高也有密切关系。

2.3 高氧处理对草莓果实几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活性的影响

高氧处理诱导草莓果实的几丁质酶和 β -1, 3 葡聚

糖酶活性的升高(图 3)。处理果实在贮藏初期几丁质酶和 β -1, 3 葡聚糖酶即迅速上升, 并于第 6 d 达一个峰值。在贮藏的前 6 d, 处理果实的酶活性显著高于 ($P \leq 0.05$) 对照果实。在贮藏第 6~9 d, 处理果实的酶活性略有下降, 但 β -1, 3 葡聚糖酶的活性仍高于对照。贮藏 9 d 以后, 对照果实的几丁质酶和 β -1, 3 葡聚糖酶活性迅速增加, 至 15 d 时这两种酶的活性高于高氧处理水平, 但差异不显著。几丁质和 β -1, 3 葡聚糖是真菌细胞壁的主要成分。几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶能够将真菌细胞壁降解, 使得病原菌的生长受到限制。蒋跃明^[22]在香蕉采后炭疽病研究中发现, 抗病性强的品种其几丁质酶和 β -1, 3 葡聚糖酶活性显著高于抗病性弱的品种。范青等^[4]发现拮抗菌能诱导提高桃果实几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶的活性, 抑制桃果实软腐病的发生。这些结果表明, 几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶在抑制病菌生长中起到重要的作用。本试验中, 60% 和 100% O₂ 处理在贮藏前期诱导草莓果实几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活性的增加, 而在此期间高氧处理果实的腐烂显著低于对照果实, 说明高氧抑制草莓果实采后腐烂与诱导果实几丁质酶和 β -1, 3 葡聚糖酶活性的升高密切相关。在正常情况下, 几丁质酶和 β -1, 3 葡聚糖酶主要分布于液泡内, 分布于细胞间隙中的相对较少。病原菌的侵染可使果实细胞膜系统受到损伤, 导致液泡内几丁质酶和 β -1, 3 葡聚糖酶释放, 并对病原真菌细胞壁发生降解作

用,而病原菌细胞壁降解产物具有诱导几丁质酶和 β -1,3葡聚糖酶活性的功能^[23]。对照果实在贮藏后期几

丁质酶和 β -1,3葡聚糖酶活性迅速升高,可能与病原菌大量生长繁殖,从而诱导这两种酶活性有关。

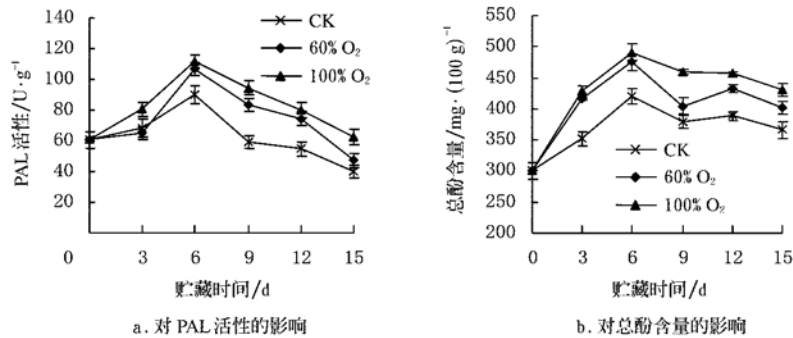


图2 高氧处理对草莓果实 PAL 活性和总酚含量的影响

Fig. 2 Effects of high oxygen treatments on the phenylalanine ammonium-lyase (PAL) activity and total phenolics content of strawberry fruit

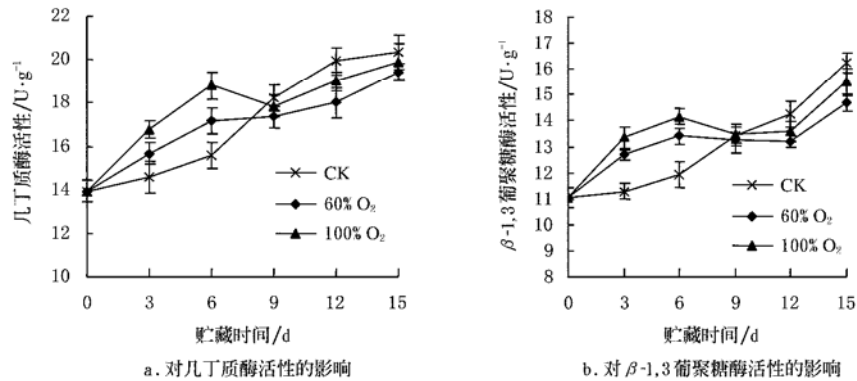


图3 高氧处理对草莓果实几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响

Fig. 3 Effects of high oxygen treatments on the chitinase and β -1,3-glucanase activities of strawberry fruit

2.4 高氧处理后的草莓转移至室温贮藏 1 d 的后续效应

冷藏 15 d 后的草莓果实在转移至 20℃ 空气中 1 d 货架存放期间,果实腐烂指数、 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性迅速上升,总酚含量、PPO、PAL 活性均有不

同程度的下降(表 1)。经高氧处理果实的腐烂指数显著低于对照果实,同时保持较高的总酚含量和较高的 PAL、PPO 活性。对照果实 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性显著高于高氧处理果实,这可能是由于微生物的大量生长诱导了这两种酶活性增加的缘故。

表 1 高氧处理后的草莓转移至室温 1 d 的后续效应

Table 1 Residual effect of high oxygen treatments on strawberry during one-day storage in air at 20℃

处理	腐烂指数/%	总酚/mg·(100g) ⁻¹	PAL/U·g ⁻¹	β -1,3-葡聚糖酶/U·g ⁻¹	几丁质酶/U·g ⁻¹	PPO/U·g ⁻¹
CK	67a	355±7a	34.3±1.4a	18.9±0.01a	25.5a	653.2±26a
60% O ₂	57b	359±11b	42.6±1.1b	16.3±0.02b	22.1b	710.8±18b
100% O ₂	34c	368±23b	54.4±0.5c	15.7±0.01c	20.0c	815.3±24c

3 结论

1) 高氧处理显著抑制草莓果实在 5℃ 15 d 冷藏及后续 20℃ 空气中 1 d 货架存放期间果实腐烂的发生,100% O₂ 对腐烂的抑制作用大于 60% O₂ 处理。

2) 高氧处理显著提高草莓果实苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶、几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性,诱导总酚含量的增加。

3) 高氧抑制草莓果实的腐烂与抗病相关酶活性和

总酚含量的升高密切相关,诱导提高抗病性是高氧处理抑制草莓果实采后腐烂的重要作用机理之一。

[参考文献]

- [1] Terry L A, Joyce D C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review [J]. Postharv Biol Technol, 2004, 32: 1-13.
- [2] Porat R, Lers A, Dori S, et al. Induction of chitinase and β -1,3-endoglucanase proteins by UV irradiation and wounding in grapefruit peel tissue [J]. Phytoparasitica,

- 1999, 27(3): 233–238.
- [3] Ippolito A, El-Ghaouth A, Wilson C, et al. Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses[J]. *Postharv Biol Technol*, 2000, 19: 265–272.
- [4] 范青, 田世平, 刘海波, 等. 两种拮抗菌 β -1, 3-葡聚糖酶和几丁酶的产生及其抑菌的可能机理[J]. *科学通报*, 2001, 46(20): 1713–1717.
- [5] Pavoncello D, Lurie S, Droby S, et al. A hot water treatment induces resistance to *Penicillium digitatum* and promotes the accumulation of heat shock proteins and pathogenesis-related proteins in grapefruit flavedo[J]. *Physiol Plant*, 2001, 111: 17–22.
- [6] Kader A A, Ben-Yehoshua S. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables[J]. *Postharv Biol Technol*, 2000, 20: 1–13.
- [7] Perez A G, Sanz C. Effect of high-oxygen and high-carbon-dioxide atmospheres on strawberry flavor and other quality traits[J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 2370–2375.
- [8] Wszelaki A L, Mitcham E J. Effects of superatmospheric oxygen on strawberry fruit quality and decay[J]. *Postharv Biol Technol*, 2000, 20(2): 125–133.
- [9] Zheng Y H, Wang C Y, Wang S Y, et al. Effect of high-oxygen atmospheres on blueberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity[J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51: 7162–7169.
- [10] 杨震峰, 郑永华, 冯磊, 等. 高氧处理对杨梅果实采后腐烂和品质的影响[J]. *园艺学报*, 2005, 32(1): 94–96.
- [11] 陈学红, 郑永华, 杨震峰, 等. 高氧处理对草莓采后腐烂和品质的影响[J]. *农业工程学报*, 2004, 20(5): 200–202.
- [12] 欧阳光察. 苯丙氨酸解氨酶 PAL 活性的测定 [A]. 薛应龙. *植物生理学实验手册* [C]. 上海: 上海科技出版社, 1985: 191–192.
- [13] Murr D P, Morris L L. Influence of O₂ and CO₂ on o-diphenol oxidase activity in mushrooms[J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 1974, 99: 155–158.
- [14] Abeles F B, Bosshart R P, Fottence L F, et al. Preparation and purification of β -1, 3-glucanase and chitinase from bean leaves[J]. *Plant Physiol*, 1970, 47: 129–134.
- [15] Ohtakara A. Chitinase and β -N-acetylhex-osaminidase from *Pycnoporus cinnabarinus* [A]. Wood W A, Kellogg S T. *Methods in Enzymology* [C]. San Diego: Academic Press, 1988: 462.
- [16] Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1986, 247: 1–11.
- [17] Qin G Z, Tian S P, Liu H B, et al. Polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonium lyase induced in postharvest peach fruits by inoculation with *Pichia membranefaciens* or *Rhizopus stolonifer* [J]. *Agr Sci China*, 2002, 12(1): 1370–1375.
- [18] Dixon R A, Lamb C J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens[J]. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1990, 41: 339–367.
- [19] Nicholson R L, Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance [J]. *Ann Rev Phytopathol*, 1992, 30: 369–389.
- [20] Droby S, Chalutz E, Horev B, et al. Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum* [J]. *Plant Pathol*, 1993, 42(3): 418–424.
- [21] 苏新国, 郑永华, 冯磊, 等. 外源 Me-JA 对菜用大豆采后衰老和腐烂的影响[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(1): 52–58.
- [22] 蒋跃明. 香蕉采后炭疽病发生与几丁酶、 β -1, 3-葡聚糖酶和多巴胺的关系[J]. *植物生理学报*, 1997, 23(2): 158–162.
- [23] Darvill A G, Albershim P. Phytoalexins and their elicitors—a defense against microbial infection in plants [J]. *Ann Rer Plant Physiol*, 1984, 35: 243.

Inhibition of postharvest decay in relation to induced disease resistance of strawberry fruit treated with high oxygen

Chen Xuehong^{1,2}, Zheng Yonghua^{1*}, Yang Zhenfeng¹, Cao Shifeng¹, Li Na¹, Ma Sujuan¹

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

2. Department of Food Technology, Xuzhou Insititute of Technology, Xuzhou 221008, China)

Abstract: Strawberry (*Fragaria ananassa*, Duch cv. FengXiang) fruits were stored in 60% O₂ or 100% O₂ or air (control) at 5°C for up to 15 days following with one day shelf period in air at 20°C to investigate the effects of high oxygen treatments on the decay control and its relation to the induction of disease resistance. Results indicate that the treatments with 60% O₂ or 100% O₂ significantly inhibit decay incidence, maintain higher levels of phenylalanine ammonium-lyase, polyphenol oxidase, chitinase and β -1, 3-glucanase activities and total phenolic content during storage at 5°C. When the fruits are removed from the high oxygen atmospheres and hold for additional one day in air at 20°C, fruits treated with 60% O₂ or 100% O₂ also have significantly less decay rate and higher levels of phenylalanine ammonium-lyase and polyphenol oxidase activities and total phenolic content. 100% O₂ treatment is more effective in controlling fruit decay than 60% O₂ treatment. These results suggest that the inhibition of fruit decay by high oxygen treatment is related to the induction of defensive enzyme activities. The induced disease resistance may be involved in the mechanisms by which high oxygen treatment can inhibit fruit decay in strawberry fruit.

Key words: strawberry fruit; high oxygen treatment; fruit decay; induced disease resistance; total phenolics