

# 茉莉酸甲酯诱导的采后香蕉果实耐冷性与活性氧信号的关系

王海波<sup>1</sup>, 黄椿颖<sup>1</sup>, 庞学群<sup>2</sup>, 徐兰英<sup>1</sup>, 张昭其<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>华南农业大学园艺学院, 广州 510642; <sup>2</sup>华南农业大学生命科学学院, 广州 510642)

**摘要:** 【目的】探讨茉莉酸甲酯 (MeJA) 对采后香蕉果实耐冷诱导的效果及其对活性氧代谢、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的影响。【方法】香蕉果皮用 10 μmol·L<sup>-1</sup> MeJA 处理 1 min, 在 20℃ 恒温培养 1 d (取样作第 0 天), 然后置于 7℃ 下离体培养 10 d, 测定果皮冷害指数、细胞膜透性、过氧化氢和超氧阴离子含量、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、NADPH 氧化酶以及 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的变化。【结果】与对照香蕉果皮相比, 10 μmol·L<sup>-1</sup> MeJA 处理的冷害指数较低、细胞膜透性增加缓慢; MeJA 处理诱导了果皮 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率的提高, 并维持了前 4 d 的高水平, 而 MeJA 处理降低了 CAT 和 APX 的活性, 并在前 4 d 维持了较低的水平; 研究还发现, MeJA 处理还诱导了 NADPH 氧化酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的升高。【结论】MeJA 诱导的活性氧猝发可能作为信号分子参与诱导了香蕉果皮冷害和耐冷诱导, 并可能与钙信号相关。

**关键词:** 茉莉酸甲酯; 冷害; 活性氧; 香蕉果皮

## Methyl Jasmonate Induced Cold Resistance and Reactive Oxygen Species Signaling in Postharvest Banana Fruit

WANG Hai-bo<sup>1</sup>, HUANG Chun-ying<sup>1</sup>, PANG Xue-qun<sup>2</sup>, XU Lan-ying<sup>1</sup>, ZHANG Zhao-qi<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642; <sup>2</sup>College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

**Abstract:** 【Objective】The effects of methyl jasmonate (MeJA) on cold resistance, reactive oxygen species (ROS) metabolism and Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity of postharvest banana fruit were investigated in this paper. 【Method】Banana peels were treated with 10 μmol·L<sup>-1</sup> MeJA for 1 min and incubated at 20℃ for 1 day (sampled as Day 0), and then incubated in vitro at 7℃ for 10 days. The chilling injury index, cell membrane permeability, contents of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup>, changes in activities of CAT, APX, NADPH oxidase and Ca<sup>2+</sup>-ATPase were determined. 【Result】Compared with control peels, the chilling injury index of MeJA treated peels was less and the increase of cell membrane permeability was slower. Moreover, MeJA treatment induced the increase of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and O<sub>2</sub><sup>-</sup> production and maintained their high levels in early 4 days. However, MeJA treatment reduced the activities of CAT and APX and maintained low activity in early 4 days. MeJA treatment was also found to induce the activities of NADPH oxidase and Ca<sup>2+</sup>-ATPase of banana peels. 【Conclusion】The reactive oxygen species induced by MeJA might serve as signal moleculars and be involved in chilling injury and chilling resistance of banana peels, and they might also induce calcium signaling.

**Key words:** Methyl jasmonate; Chilling injury; Reactive oxygen species; Banana peel

## 0 引言

【研究意义】香蕉是华南地区北运和出口的主要水果之一, 经济价值很高, 但香蕉果实属冷敏性水果, 贮藏温度低于 12℃ 时即发生冷害, 从而难于采用较低

的温度以延长贮运期<sup>[1]</sup>。探讨采后果蔬冷害的生理机制及减轻果蔬贮运冷害的措施, 长期以来是果蔬采后生理学中的一个重要领域。【前人研究进展】冷害低温引起采后果蔬自由基产生与清除系统平衡破坏, 导致细胞活性氧的累积<sup>[2]</sup>。活性氧过去一直被认为是植

收稿日期: 2007-07-17; 接受日期: 2007-10-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471219), 广东省联合基金重点项目 (U0631004), 广东省自然科学基金团队项目 (06200670)

作者简介: 王海波 (1981-), 男, 湖南祁阳人, 博士研究生, 研究方向为果蔬采后生理与生化。Tel: 020-85280229; E-mail: haibovip@126.com。通讯作者张昭其 (1965-), 男, 湖南东安人, 教授, 研究方向为园艺产品采后生理与分子生物学。Tel: 020-85280229; E-mail: zqzhang@scau.edu.cn

物代谢过程中的毒副产品,但近年来的研究表明,活性氧也是细胞信号转导和调控的重要组成部分<sup>[3]</sup>。Prasad等<sup>[4]</sup>报道低浓度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在常温下能诱导玉米幼苗中保护酶基因的表达,模拟冷驯化,提高了玉米幼苗的抗冷力。在香蕉幼苗上喷施H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和Ca<sup>2+</sup>也提高了其抗冷力,诱导了抗氧化酶活性的提高<sup>[5]</sup>。钙离子作为重要的胞内第二信使,参与了植物对环境信号的应答反应。细胞质内Ca<sup>2+</sup>浓度(钙信号)取决于细胞膜Ca<sup>2+</sup>通道活性或开放程度、质膜Ca<sup>2+</sup>泵的激活程度等,而活性氧对上述调节因素都表现一定的调控作用<sup>[6]</sup>。质膜Ca<sup>2+</sup>-ATPase(钙离子泵)作为细胞质内排除Ca<sup>2+</sup>的主动运输体系之一,对维持胞内Ca<sup>2+</sup>稳态有重要作用<sup>[7]</sup>。【本研究切入点】茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)是植物中天然存在的生长调节因子,在调节植物胁迫反应方面发挥着重要作用<sup>[8]</sup>。MeJA处理可减轻采后石榴<sup>[9]</sup>,番木瓜<sup>[10]</sup>和黄瓜<sup>[11]</sup>果实的冷害症状。MeJA处理减轻果实贮藏冷害是否与活性氧或钙信号有关,目前报道很少。【拟解决的关键问题】本文采用能诱导植物活性氧爆发的MeJA处理采后香蕉果实,探讨了MeJA减轻香蕉贮藏冷害的效果及其对活性氧代谢、Ca<sup>2+</sup>-ATPase的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及处理

香蕉品种为巴西(*Musa. AAA Group cv. 'Brazil'*),采自广州番禺,挑选约为7成绿熟的香蕉,采后立即运回实验室,挑选大小均匀,无病虫害及机械伤的果实,先后用0.1%漂白粉和0.05%施保功各浸泡5 min后,晾干备用。本文采用香蕉果皮离体培养的方法,取40个香蕉,每个香蕉切出10个约1 cm×1 cm的正方形果皮小块,分成相等的两份,一份放入MeJA的溶液中浸泡1 min,作为MeJA处理;另一份放入蒸馏水中浸泡1 min,作为对照(CK)。MeJA处理浓度为1 μmol·L<sup>-1</sup>、5 μmol·L<sup>-1</sup>、10 μmol·L<sup>-1</sup>、100 μmol·L<sup>-1</sup>,根据果皮冷害指数,发现10 μmol·L<sup>-1</sup>诱导耐冷效果最好,本文所指的MeJA处理均采用该浓度。经处理的果皮放置于含琼脂的培养皿中,每个培养皿8个香蕉片,在20℃恒温箱培养1 d(取样作第0天),然后转入7℃恒温箱中培养,定期取样用于各生理指标测定,重复3次。

### 1.2 测定方法

1.2.1 冷害指数和果皮膜透性的测定 冷害指数参照朱世江等<sup>[12]</sup>的方法,稍有修改。果皮冷害症状分为

5级,分级标准为:0级,果皮呈亮绿色,没有冷害症状;1级,有轻微水渍状冷害斑,占果皮总面积25%以下;2级,冷害面积占果皮总面积的比例小于50%;3级,冷害面积占果皮总面积的比例小于75%;4级,冷害面积占果皮总面积的75%以上。计算公式为:冷害指数(CID)=(0·N<sub>0</sub>+1·N<sub>1</sub>+2·N<sub>2</sub>+3·N<sub>3</sub>+4·N<sub>4</sub>)/(4·N<sub>T</sub>)。式中N<sub>0</sub>~N<sub>4</sub>分别为相应级别冷害的果皮数,N<sub>T</sub>为观察果皮的总数。

果皮膜透性的测定参照张昭其等<sup>[13]</sup>的方法,取香蕉果皮,用直径10 mm的打孔器打10个圆孔,蒸馏水清洗3次后用滤纸吸干,放入50 ml具塞刻度试管中,加入25 ml蒸馏水,静置30 min,用DDS-11A型电导仪测定电导率。煮沸30 min后再测电导率,以前后两次电导率之比所得的相对电导率来表示细胞膜透性。

1.2.2 超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)的产生速率和过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量的测定 O<sub>2</sub><sup>-</sup>的产生速率参照王爱国等<sup>[14]</sup>的方法,结果以nmol O<sub>2</sub><sup>-</sup> min<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup>FW表示。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的测定参照Zhou等<sup>[15]</sup>的方法,取香蕉果皮1 g,加入5 ml 5% TCA(三氯乙酸)和0.2 g PVP(聚乙烯吡咯烷酮),冰浴研磨,13 000 g于4℃下离心20 min,上清液用氨水调pH至8.4,并用pH 8.4的TCA定容至6 ml。取1 ml上清液,30℃水浴30 min,加入1 ml显色液于500 nm处比色,以1 ml上清液中加入10 μg过氧化氢酶作为空白对照。根据标准曲线计算出H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量。结果以nmol·g<sup>-1</sup>FW表示。显色液:4-氨基安替吡啉0.01 g,苯酚0.01 g,溶于50 ml 0.1 mol·L<sup>-1</sup> pH 5.6的CH<sub>3</sub>COOH缓冲液中,加入5 mg过氧化物酶。

1.2.3 过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定 CAT活性的测定参照曾韶西等<sup>[16]</sup>的方法,稍作修改,3 ml反应液中包括:2.9 ml 0.2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(以pH 7.8,50 mmol·L<sup>-1</sup>的磷酸缓冲液配制)和100 μl粗酶液,在240 nm处测定OD<sub>240</sub>值变化,以OD<sub>240</sub>每分钟减少0.001表示一个酶活力单位(U),酶的活性以U·g<sup>-1</sup>FW表示。APX活性的测定参照沈文飏等<sup>[17]</sup>的方法,稍作修改。取1 g香蕉果皮,液氮研磨,加5 ml酶提取液[50 mmol·L<sup>-1</sup> PBS(磷酸钠缓冲液),pH 7.0,2 mmol·L<sup>-1</sup> AsA(抗坏血酸),5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA(乙二胺四乙酸),现配现用],13 000 g于4℃下离心20 min,得上清酶液5 ml左右,置冰中待用。先在比色皿中加入100 μl的酶液,再加入2.75 ml反应液(含50 mmol·L<sup>-1</sup> PBS,pH 7.0,0.1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA,

0.3 mmol·L<sup>-1</sup> AsA), 最后加入 150 μl 0.1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 启动反应, 在 290 nm 处测定 OD<sub>290</sub> 值变化, 以 OD<sub>290</sub> 每分钟减少 0.001 表示一个酶活力单位 (U), 结果以 U·g<sup>-1</sup>FW 表示。

1.2.4 细胞膜微膜囊提取、NADPH 氧化酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的测定 参照 Morre 等<sup>[18]</sup>的方法提取细胞膜微膜囊。取香蕉果皮 12 g, 用 60 ml 提取液匀浆, 然后用四层纱布过滤。滤出液 7 500 g 离心 15 min, 上清液 36 000 g 离心 1 h, 保留沉淀。沉淀用 3 ml 悬浮液稀释, 得到粗的细胞膜微膜囊提取液。提取液含有: 25 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-mes (pH 7.8)、0.25 mol·L<sup>-1</sup> 蔗糖、3 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA、0.9% PVP、5 mmol·L<sup>-1</sup> DTT (二硫苏糖醇)、1 mmol·L<sup>-1</sup> PMSF (苯甲基磺酰氟); 悬浮液含有: 5 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-Mes[三羟甲基氨基甲烷-2-(N-吗啉)乙磺酸缓冲液, pH 7.8]、0.25 mol·L<sup>-1</sup> 蔗糖、5 mmol·L<sup>-1</sup> KCl、1 mmol·L<sup>-1</sup> DTT、1 mmol·L<sup>-1</sup> PMSF。

NADPH 氧化酶活性的测定: 按 Sagi 等<sup>[19]</sup>的方法进行, 采用上述细胞膜微膜囊, 通过 NADPH 氧化酶产生的活性氧氧化 XTT[2,3-Bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-Tetrazolium-5-carboxanilide inner salt]的量来表示该酶活性。反应体系 1 ml 包括 50 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.4), 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> XTT, 100 μmol·L<sup>-1</sup> NADPH 和 20 μl 的细胞膜微膜囊, 加入 NADPH 启动反应, XTT 减少量可通过 470 nm 检测。本底值 (background production) 可在反应系统中加入 50 units SOD (超氧化歧化酶) 测得。酶活性可通过 XTT 比吸收系数  $2.16 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  换算成活性氧的量来表示。单位为: μmol O<sub>2</sub><sup>-</sup>·min<sup>-1</sup>·g<sup>-1</sup>FW

Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的测定: 参照李杨瑞<sup>[20]</sup>和 Robbins 等<sup>[21]</sup>的方法, 稍作修改。利用细胞膜微膜囊跟反应液产生的磷含量来表示该酶的活性。取 400 μl 反应液 (25 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-mes, 50 mmol·L<sup>-1</sup> KCl, 10 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>, 2 mmol·L<sup>-1</sup> Na-ATP, pH 7.5), 加入 30 μl 0.4% Triton-X-100, 再加入 10 μl 的微膜囊启动反应, 置于 37 °C 水浴锅中培养 30 min。反应之后加入 1.6 ml 反应终止液, 置于 37 °C 水浴锅中培养 30 min, 来终止反应, 接着在紫外分光光度计上读取 820 nm 的 OD 值。终止液包括 A: 0.42% 的钼酸铵 + 0.5 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; B: 10% 抗坏血酸; C: 0.3% SDS (十二烷基磺酸钠)。其中 V<sub>A</sub>: V<sub>B</sub> = 6: 1。根据标准曲线计算出磷的含量, 结果以 μmol Pi·h<sup>-1</sup>·g<sup>-1</sup>FW 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫下 MeJA 对采后香蕉果皮冷害指数和细胞膜透性的影响

从图 1 可知, 香蕉果皮在 7 °C 下培养时, 冷害指数从第 4 天开始迅速增加, 表明香蕉果皮在 7 °C 下放置 4 d 后开始出现冷害症状。MeJA 处理的冷害指数比对照低, 说明适当浓度的 MeJA 处理能够减轻冷害温度下采后香蕉果皮冷害症状的发生。

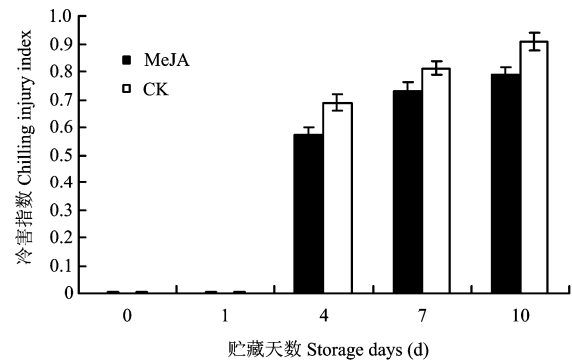


图 1 MeJA 处理对 7 °C 香蕉果皮冷害指数的影响

Fig. 1 Effect of MeJA treatment on chilling injury index of banana peel at 7 °C

从图 2 可知, 采后香蕉果皮在 7 °C 下培养时, 果皮细胞膜透性呈逐渐上升趋势, MeJA 处理的果皮细胞膜透性在第 7 天才开始上升, 且一直比对照低, 表明 MeJA 处理能在一定程度上延缓细胞膜透性的上升。

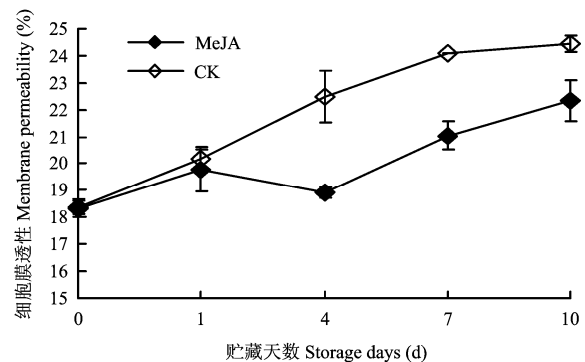


图 2 MeJA 处理对 7 °C 香蕉果皮细胞膜透性的影响

Fig. 2 Effect of MeJA on membrane permeability of banana peel at 7 °C

## 2.2 低温胁迫下 MeJA 对采后香蕉果皮 $O_2^-$ 产生速率和 $H_2O_2$ 含量的影响

从图 3 可知, 经 MeJA 处理的香蕉果皮在  $20^\circ\text{C}$  下培养 1 d, 可诱导  $O_2^-$  的产生。在  $7^\circ\text{C}$  低温培养过程中, 对照香蕉果皮  $O_2^-$  的产生速率呈逐渐上升的趋势, 与对照相比, MeJA 处理的  $O_2^-$  产生速率在前期 (第 0、1、4 天) 显著高于对照, 而后期 (第 7 和 10 天) 则比对照低。说明 MeJA 处理能显著诱导采后香蕉果皮  $O_2^-$  的产生并维持前期的高水平。

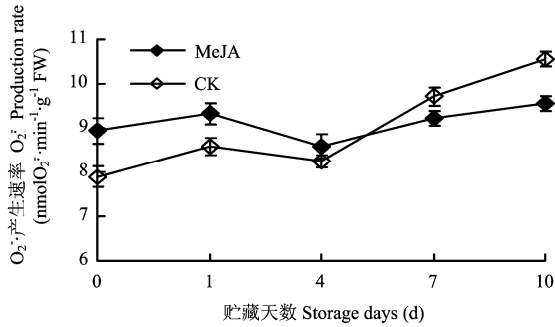


图 3 MeJA 处理对  $7^\circ\text{C}$  香蕉果皮  $O_2^-$  产生速率的影响

Fig. 3 Effect of MeJA treatment on  $O_2^-$  production rate of banana peel at  $7^\circ\text{C}$

从图 4 可看出, 经 MeJA 处理的香蕉果皮在  $20^\circ\text{C}$  下培养 1 d, 也能诱导  $H_2O_2$  含量的提高。在  $7^\circ\text{C}$  低温培养过程中,  $H_2O_2$  含量的变化趋势与  $O_2^-$  产生速率的变化趋势类似, MeJA 处理的  $H_2O_2$  含量在前期比对照高, 后期则比对照低。说明 MeJA 处理能诱导采后香蕉果皮  $H_2O_2$  的产生并维持贮藏前期的高水平。

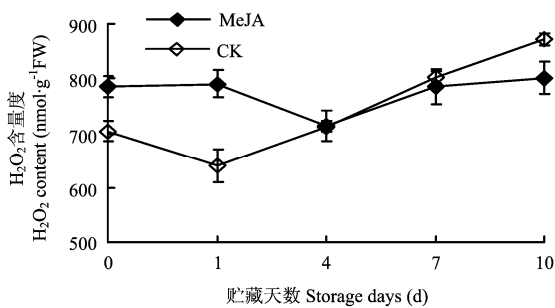


图 4 MeJA 处理对  $7^\circ\text{C}$  香蕉果皮  $H_2O_2$  含量的影响

Fig. 4 Effect of MeJA treatment on  $H_2O_2$  content of banana peel at  $7^\circ\text{C}$

## 2.3 低温胁迫下 MeJA 对采后香蕉果皮 CAT 和 APX 活性的影响

从图 5 可知, 经 MeJA 处理后的香蕉果皮在  $20^\circ\text{C}$  下培养 1 d 降低了果皮 CAT 活性。在  $7^\circ\text{C}$  低温培养过程中, 对照果皮 CAT 活性呈先下降后上升再下降的趋势, 但活性变化不大。MeJA 处理果皮的 CAT 活性在 0 d 和 1 d 时比对照低, 4 d 到 10 d 时比对照高。说明 MeJA 处理能抑制采后香蕉果皮 CAT 活性, 但在贮藏后期可维持较高的 CAT 活性。

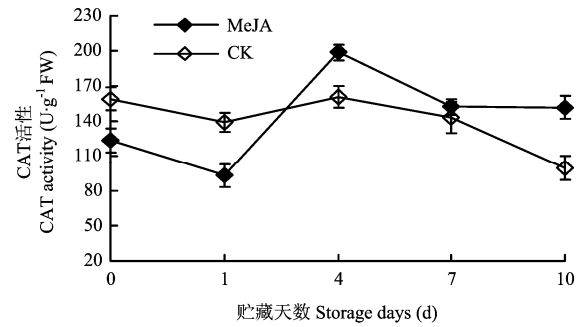


图 5 MeJA 处理对  $7^\circ\text{C}$  香蕉果皮 CAT 活性的影响

Fig. 5 Effect of MeJA treatment on activity of CAT of banana peel at  $7^\circ\text{C}$

从图 6 可知, 经 MeJA 处理后的香蕉果皮在  $20^\circ\text{C}$  下培养 1 d 也降低了果皮 APX 活性。在  $7^\circ\text{C}$  低温培养过程中, 对照果皮 APX 活性变化不大。MeJA 处理果皮的 APX 活性在 0 d 和 1 d 时比对照低, 4 d 到 10 d 时比对照高。说明 MeJA 处理能抑制采后香蕉果皮 APX 活性, 但在贮藏后期可维持较高的 APX 活性。

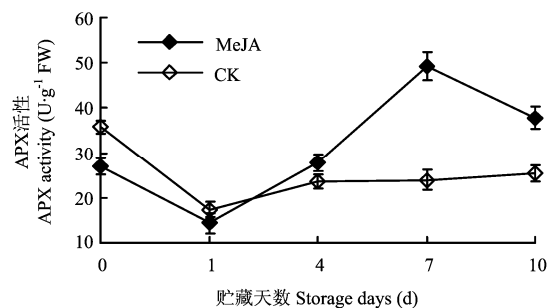


图 6 MeJA 处理对  $7^\circ\text{C}$  香蕉果皮 APX 活性的影响

Fig. 6 Effect of MeJA treatment on activity of APX of banana peel at  $7^\circ\text{C}$

## 2.4 低温胁迫下 MeJA 对采后香蕉果皮 NADPH 氧化酶和 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响

从图 7 可知, MeJA 处理诱导了低温下培养的果皮 NADPH 氧化酶活性提高, 但在 10 d 时下降到对照水平, 而对照果皮在低温下 NADPH 氧化酶活性变化不大, 在 7 d 时略有升高。说明 MeJA 处理能在一定程度上诱导了低温下香蕉果皮 NADPH 氧化酶活性的升高。

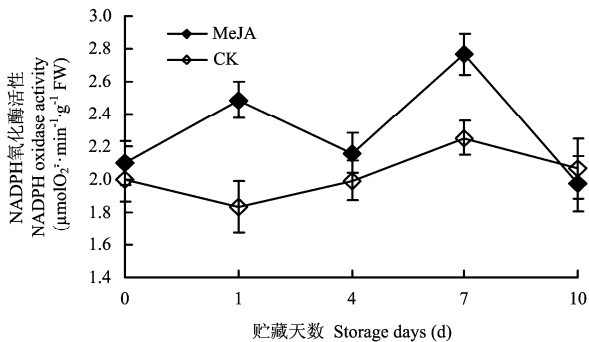


图 7 MeJA 处理对 7°C 香蕉果皮 NADPH 氧化酶活性的影响

Fig. 7 Effect of MeJA on the activity of NADPH oxidase of banana peel at 7°C

从图 8 可知, MeJA 处理及对照果皮的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性基本呈先下降后上升的趋势。除第 4 d 外, MeJA 处理果皮的 NADPH 氧化酶活性在整个低温培养过程中都比对照的高。说明 MeJA 处理能诱导香蕉果皮  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的升高。

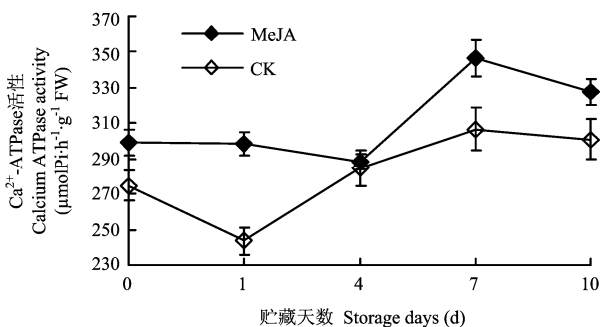


图 8 MeJA 处理对 7°C 香蕉果皮  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响

Fig. 8 Effect of MeJA treatment on activity of Calcium ATPase of banana peel at 7°C

## 3 讨论

冷害指数是反应植物冷害严重程度的一个重要指标, 细胞膜透性的显著上升通常被认为是冷害发生的重要标志之一<sup>[22]</sup>。本文结果表明, 香蕉果皮在 7°C 低温下培养, 随着细胞膜透性的提高, 果皮冷害指数也逐渐提高, 而经  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  MeJA 处理后的香蕉果皮在 20°C 下培养 1 d, 能降低随后果皮在低温下的冷害指数, 减轻冷害症状的发生, 并延缓香蕉果皮细胞膜透性的升高, 这与 Gonzalez-Aguilar 等在番木瓜<sup>[10]</sup>、韩晋等在黄瓜<sup>[11]</sup>上报道的结果一致, 说明适宜浓度的 MeJA 处理能有效提高采后香蕉果实的耐冷性。

长期以来活性氧被认为是对植物细胞产生毒害作用的代谢产物, 但近年来的研究发现, 活性氧作为信号分子在植物的生物胁迫(抗病性)、非生物胁迫、气孔关闭调节、植物根系的激素信号和向重性信号等方面都起着重要作用<sup>[23]</sup>。例如, 在拟南芥中  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理能够模仿冷驯化, 促进冷驯化反应相关基因的表达, 从而提高了拟南芥的耐冷性<sup>[24]</sup>。MeJA 能诱导植物活性氧的积累, 并能提高植物的抗逆性。在紫杉细胞培养中用外源  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  MeJA 处理, 诱导了  $\text{H}_2\text{O}_2$  的产生, 同时诱导了 LOX 和 PAL 活性的增加<sup>[25]</sup>。本文结果表明, 经  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  MeJA 处理后的香蕉果皮在 20°C 下培养 1 d, 诱导了香蕉果皮活性氧 ( $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2^-$ ) 的积累, 并降低了细胞膜透性和果皮冷害指数, 这表明 MeJA 诱导的活性氧的积累可能作为信号分子参与了采后香蕉抗冷性的诱导。

植物在长期进化过程中形成了多种机制以清除活性氧。其中, CAT 和 APX 作为活性氧的主要清除酶, 在抑制膜脂过氧化、维持膜系统的稳定性中起重要作用。本文结果表明, MeJA 处理在前期抑制而在后期诱导了香蕉果皮 CAT 和 APX 活性的提高, 韩晋等<sup>[11]</sup>研究也发现 MeJA 处理可以提高黄瓜中的 CAT 活性, 认为这可能与提高黄瓜的抗冷性直接相关。CAT 和 APX 活性的提高也间接表明了活性氧含量的累积, 在低温培养过程中, MeJA 处理的香蕉果皮活性氧 ( $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2^-$ ) 在前期保持较高水平, 而在后期有所降低, 这说明活性氧含量在植物细胞内是受到严格调控的, 这对活性氧作为信号分子是必须的。

近年来许多研究发现, 植物通过 NADPH 氧化酶在短时间内大量产生活性氧信号分子以激发钙信号来应对各种逆境胁迫以及调控植物的生长和发育。例如, 当细胞受到病原菌的刺激时, 细胞质膜上的 NADPH

氧化酶在短时间内产生大量的 $O_2^-$ ,  $O_2^-$ 很快歧化为 $\cdot OH$ 和 $H_2O_2$ 等其它活性氧<sup>[26]</sup>。本文结果表明, MeJA 处理诱导了低温胁迫下采后香蕉果皮 NADPH 氧化酶活性的升高, 并在前期诱导了活性氧( $H_2O_2$ 和 $O_2^-$ )的积累。Foreman 等<sup>[27]</sup>研究表明, 拟南芥 NADPH 氧化酶催化产生的活性氧, 使细胞膜发生超极化, 能激活质膜 $Ca^{2+}$ 通道, 导致细胞质 $Ca^{2+}$ 浓度升高(钙信号)。当植物遭受冷害并由此诱导对低温的适应时, 钙离子是低温信号的主要传导者<sup>[28]</sup>。植物细胞的质膜 $Ca^{2+}$ -ATPase(钙泵)作为细胞排 $Ca^{2+}$ 的主动运输体系之一, 在维持胞内外 $Ca^{2+}$ 平衡、提高植物抗逆性及维持细胞在逆境条件下的正常生长发育等方面起着重要作用<sup>[7]</sup>。本研究结果表明, 香蕉果皮在冷害低温下培养, MeJA 处理不但在一定程度上诱导了 NADPH 氧化酶活性的升高, 而且也诱导了 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的升高, 说明在低温胁迫下 MeJA 处理可能通过 NADPH 氧化酶催化形成的活性氧而激活钙信号。

## 4 结 论

适宜浓度的 MeJA 处理在一定程度上抑制了香蕉果皮 CAT 和 APX 活性, 诱导了活性氧的积累, 减轻了采后香蕉冷害症状的发生, 并诱导了质膜 NADPH 氧化酶和 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的升高。推测 MeJA 诱导的活性氧积累可能作为低温胁迫下的信号分子参与了香蕉果实的冷害和耐冷诱导, 同时 NADPH 氧化酶和 $Ca^{2+}$ -ATPase 也参与了香蕉果实的冷害和耐冷诱导。

## References

- [1] 张昭其, 庞学群. 南方水果贮藏保鲜技术. 南宁: 广西科学技术出版社, 1998.  
Zhang Z Q, Pang X Q. *Technique of Postharvest Handling and Storage of South China Fruits*. Nanning: Guangxi Technology Press, 1998. (in Chinese)
- [2] 陆旺金, 张昭其, 季作梁. 热带亚热带果蔬低温贮藏冷害及御冷技术. 植物生理学通讯, 1999, 35(2): 158-163.  
Lu W J, Zhang Z Q, Ji Z L. Chilling injury and approaches to reduce chilling injury of tropical and subtropical fruits and vegetables during low temperature storage. *Plant Physiology Communications*, 1999, 35 (2): 158-163. (in Chinese)
- [3] Pitzschke A, Hirt H. Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species signaling in plants. *Plant Physiology*, 2006, 141: 351-356.
- [4] Prasad T K, Anderson M D, Martin B A, Stewart C R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *The Plant Cell*, 1994, 6: 65-74.
- [5] 康国章, 陶 均, 孙谷畴, 王正询.  $H_2O_2$  和  $Ca^{2+}$  对受低温胁迫香蕉幼苗抗冷性的影响. 园艺学报, 2002, 29(2): 119-122.  
Kang G Z, Tao J, Sun G C, Wang Z X. Physiological effects of  $H_2O_2$  and  $Ca^{2+}$  on cold stressed banana seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 2002, 29(2): 119-122. (in Chinese)
- [6] Gapper C, Dolan L. Control of plant development by reactive oxygen species. *Plant Physiology*, 2006, 141: 341-345.
- [7] 张宗申, 利容千, 王建波.  $Ca^{2+}$  预处理对热胁迫下辣椒叶肉细胞中 $Ca^{2+}$ -ATP 酶活性的影响. 植物生理学报, 2001, 27(6): 451-454.  
Zhang Z S, Li R Q, Wang J B. Effect of  $Ca^{2+}$  pretreatment on the  $Ca^{2+}$ -ATPase activity in the mesophyll cells of pepper seedling under heat stress. *Acta Phytophysiological Sinica*, 2001, 27(6): 451-454. (in Chinese)
- [8] Fung R W M, Wang C Y, Smith D L, Gross K C, Tian M S. MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Plant Science*, 2004, 166: 711-719.
- [9] Zolfagharinasab R, Hadian J. Influence of methyl jasmonate on inducing chilling tolerance in pomegranate fruits (Malas Save). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2007, 10(4): 612-616.
- [10] González-Aguilar G A, Tiznado-Hernández M E, Zavaleta-Gatica R, Martínez-Téllez M A. Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defense response of guava fruits. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 313: 694-701.
- [11] 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. 园艺学报, 2006, 33(2): 289-293.  
Han J, Tian S P. Effects of exogenous methyl jasmonate on chilling injury and physiology and biochemistry in postharvest cucumber. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(2): 289-293. (in Chinese)
- [12] 朱世江, 季作梁. 热处理提高芒果抗冷性与内源 ABA 的关系. 中国农业科学, 2002, 35(9): 1150-1153.  
Zhu S J, Ji Z L. The relationship between heat-induced chilling tolerance and endogenous ABA levels in mango fruits. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(9): 1150-1153. (in Chinese)
- [13] 张昭其, 段学武, 庞学群, 季作梁. 冷激对采后香蕉几个与耐热性有关的生理指标的影响. 植物生理学通讯, 2002, 38(4): 333-335.  
Zhang Z Q, Duan X W, Pang X Q, Ji Z L. The Effects of cold shock on some physiological changes related to thermotolerance of postharvest bananas. *Plant Physiology Communications*, 2002, 38 (4): 333-335. (in Chinese)
- [14] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系. 植

- 物生理学通讯, 1990, (6): 55-57.
- Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiology Communications*, 1990, (6): 55-57. (in Chinese)
- [15] Zhou B Y, Wang J H, Guo Z F, Tan H Q, Zhu X C. A simple colorimetric method for determination of hydrogen peroxide in plant tissues. *Plant Growth Regulation*, 2006, 49: 113-118.
- [16] 曾韶西, 王以柔, 刘鸿先. 低温光照下与黄瓜子叶叶绿素降低有关的酶促反应. *植物生理学报*, 1991, 17 (2): 177-182.
- Zeng S X, Wang Y R, Liu H X. Some enzymatic reactions related to chlorophyll degradation in cucumber cotyledons under chilling in the light. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1991, 17(2): 177-182. (in Chinese)
- [17] 沈文飏, 徐朗莱, 叶茂炳, 张荣铤. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨. *植物生理学通讯*, 1996, 32(3): 203-205.
- Shen W B, Xu L L, Ye M B, Zhang R X. Study on determination of ASP activity. *Plant Physiology Communications*, 1996, 32(3): 203-205. (in Chinese)
- [18] Morré D J, Morré D M. Applications of aqueous two-phase partition to isolation of membranes from plants: A periodic NADH oxidase activity as a marker for right side-out plasma membrane vesicles. *Journal of Chromatography B*, 2000, 743: 369-376.
- [19] Sagi M, Fluhr R. Superoxide production by plant homologues of the gp91<sup>phox</sup> NADPH oxidase. Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiology*, 2001, 126: 1281-1290.
- [20] 李杨瑞. 甘蔗叶片细胞器的Mg<sup>2+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性. *植物生理学通讯*, 1987, (6): 20-21.
- Li Y R. Activities of Mg<sup>2+</sup>-ATPase and Ca<sup>2+</sup>-ATPase in various organelles of sugarcane (*Saccharum* spp.) leaves. *Plant Physiology Communications*, 1987, (6): 20-21. (in Chinese)
- [21] Robbins K M, Bhuvaramurthy N, Pliska-Matyshak G, Murthy P P N. The isolation and characterization of right-side-out plasma membrane vesicles from barley aleurone cells. *Lipids*, 1999, 34(1): 75-82.
- [22] Kang H M, Park K W, Saltveit M E. Elevated growing temperatures during the day improve the postharvest chilling tolerance of greenhouse grown cucumber (*Cucumis sativus*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 2002, 24: 49-57.
- [23] Wang J W, Wu J Y. Nitric oxide is involved in methyl jasmonate-induced defense responses and secondary metabolism activities of *Taxus* cells. *Plant and Cell Physiology*, 2005, 46(6): 923-930.
- [24] Apel K, Hirt H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, oxidative stress, and signaling transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, 55: 373-399.
- [25] Knight H, Treavas A J, Knight M R. Cold calcium signaling in Arabidopsis involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *The Plant Cell*, 1996, 8: 489-503.
- [26] Vignais P V. The superoxide-generating NADPH oxidase structural aspects and activation mechanism. *Cellular & Molecular Life Sciences*, 2002, 59: 1428-1459.
- [27] Foreman J, Demidchik V, Bothwell J H F, Mylona P, Miedema H, Torres M A, Linstead P, Costa S, Brownlee C, Jones J D G, Davies J M, Dolan L. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, 2003, 422: 442-446.
- [28] Chen W P, Li P H. Chilling-induced Ca<sup>2+</sup> overload enhances production of active oxygen species in maize (*Zea mays* L.) cultured cells: the effect of abscisic acid treatment. *Plant, Cell and Environment*, 2001, 24: 791-800.

(责任编辑 曲来娥)