

菜用大豆采后用不同浓度 1-MCP 处理对贮藏期间衰老及腐烂的影响

苏新国¹, 郑永华¹, 张 兰¹, 冯 磊¹, 汪 峰¹, 蒋跃明²

(¹ 南京农业大学食品科技学院, 南京 210095; ² 中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

摘要: 研究了菜用大豆用不同浓度 1-MCP 处理对贮藏期间生理变化及腐烂的影响。结果表明, 采用 1-MCP ($0.5 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$, $1 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$, $2 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理能够有效地抑制菜用大豆呼吸强度和乙烯的释放, 同时保持豆荚中较高的 SOD、ASA-POD 活性和 Vc 含量, 减少了 MDA 和超氧阴离子(O_2^-) 的积累, 保持豆荚中较高的叶绿素含量, 延缓其衰老进程。但高浓度 ($2 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$) 1-MCP 处理, 降低了菜用大豆贮藏后期 PAL、POD 的活性, 使豆荚中木质素的积累受抑, 降低了豆荚的抗病能力, 导致发生豆荚褐腐病。

关键词: 菜用大豆; 1-MCP; 贮藏; 乙烯; 衰老; 腐烂

Effects of 1-MCP Treatments on Senescence and Decay of Vegetable Soybean Pods During Storage Period

SU Xin-guo¹, ZHENG Yong-hua¹, ZHANG Lan¹, FENG Lei¹, WANG Feng¹, JIANG Yue-ming²

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

² South China Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650)

Abstract: The effects of 1-MCP treatments on decay and senescence of vegetable soybean during storage were investigated. Treatments with different concentrations of 1-MCP ($0.5 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$, $1 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$, $2 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$) significantly inhibited the senescence process of harvested vegetable soybean pods, as manifested in lower levels of ethylene production, respiratory rate, MDA and superoxide contents and higher levels of SOD, ASA-POD activities, Vc and chlorophyll contents. Moreover, 1-MCP treatment promoted PAL, POD activities and lignin synthesis, inhibited senescence incidence. High concentration of 1-MCP ($2 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$) treatment, however, inhibited PAL, POD activities during the later period of storage, there by increasing decay incidence.

Key words: Vegetable soybean; 1-MCP; Storage; Ethylene; Senescence; Decay

乙烯是植物的 5 大激素之一, 它促进果蔬的后熟衰老和品质劣变, 加快叶绿素的分解, 促进果蔬贮藏期间的转黄, 因而被认为是调节果蔬产品成熟和衰老的关键激素^[1]。果蔬采后贮运期间要采取各种措施, 一方面减少自身的乙烯释放, 另一方面也要及时地将生成的乙烯排除, 以延缓果蔬的后熟衰老, 延长贮期。

1-甲基环丙烷(1-MCP)是近年来发现的一种乙烯受体抑制剂^[2]。它可以特异性地和乙烯受体结

合, 阻断乙烯与其受体的正常结合, 使植物组织产生乙烯不敏感性, 从而有效地阻止内源乙烯的合成和外源乙烯的诱导作用^[3], 降低苹果、香蕉、梨、李、番茄等果蔬贮藏期间的呼吸强度和乙烯释放, 保持较高的硬度和可溶性固形物含量, 从而延长贮藏期^[4]。因此, 1-MCP 在园艺产品贮藏中有潜在的应用价值。

菜用大豆(*Glycine max*)是大豆的幼嫩组织, 由于采摘期气温较高, 采后易发生衰老黄化和腐烂, 不

耐贮藏。迄今,尚未见 1-MCP 处理对菜用大豆贮藏效果影响的报道。笔者以菜用大豆荚为材料,研究 1-MCP 对延缓菜用大豆衰老和延长贮藏期的作用,以期为 1-MCP 在果蔬贮运中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

供试菜用大豆南农 2 号,采摘于南京农业大学江浦农场,并于当日运回实验室。去除病虫害和带褐变、机械伤的残次豆荚,摊开,自然风预冷 6 h 后,放入密闭的熏蒸室中在 20℃ 下进行 1-MCP 处理 12 h。1-MCP 处理浓度分别为:0、0.5 $\mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$ 、1 $\mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 2 $\mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$ 。处理后的菜用大豆用塑料盒分装,每盒 1 000 g 左右,并置于 $1\pm 1^\circ\text{C}$ 下贮藏,贮藏期间每隔 7 d 测定以下指标。

1.2 呼吸强度、腐烂指数、丙二醛(MDA)、叶绿素、Vc 和木质素含量、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)活性

参照文献 [5] 的方法进行测定。

1.3 乙烯释放量的测定

将约 200 g 菜用大豆置于密闭的集气容器中,在 20℃ 下密闭 4 h,然后抽气 1 ml,用 Hitachi 气相色谱仪测定乙烯释放量($\mu\text{l}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)。

1.4 SOD 活性测定

取 1 g 豆荚加 5 ml 酶提取液匀浆,4℃ 下 10 000 g 离心 20 min,上清液即为酶提取液。3 ml 酶活力测定反应液中含 13 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MET,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NBT,4 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Riboflavin,100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA,40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH 7.8 的 PBS 和 0.1 ml 酶液,以不加酶液(PBS 代替)为最大还原管,PBS 为空白。在 3 000 lx 的光照培养箱中照光 15 min。取出后迅速

测定 A_{560} 。以抑制反应 50% 为一个酶活力单位($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)。

1.5 超氧阴离子(O_2^-)生成量测定

取 SOD 提取上清液 1 ml 加入 1 ml $1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸羟胺,于 25℃ 下反应 40 min。加入 2 ml 的乙醚,充分混匀于 10 000 g 下离心 5 min,吸取下层的水相 1 ml,以减少叶绿素的干扰,然后加入 1 ml $17\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对氨基苯磺酸和 1 ml $7\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 α -萘胺于 25℃ 下保温 20 min,取出测定 A_{530} ,由标准公式计算 O_2^- 的生成量($\text{nmol}[\text{NO}_2^-]\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}\text{FW}$)。

1.6 抗坏血酸过氧化物酶活性测定

参照 Mishra 等方法 [6],结果以 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\text{FW}$ 表示。以上各指标测定均重复 3 次,采用 SAS6.12 进行数据处理分析。

2 结果与分析

2.1 1-MCP 处理对菜用大豆呼吸强度和乙烯释放量的影响

菜用大豆贮藏初期呼吸强度迅速下降,以后下降缓慢。采用 1-MCP 处理可以抑制豆荚呼吸强度,处理豆荚贮藏期间呼吸强度显著低于对照(图 1-A)。对照豆荚贮藏 1 周后出现 1 个乙烯释放高峰,然后乙烯释放量迅速下降,至贮藏第 5 周,其乙烯释放量已处于极低水平(图 1-B)。采用 1-MCP 抑制了采后豆荚乙烯峰的出现,在贮藏前 5 周,处理豆荚的乙烯释放量明显低于对照。5 周后处理豆荚乙烯释放量和对照豆荚差别不大。

2.2 1-MCP 处理对豆荚 ASA-POD 活性和 Vc 含量的影响

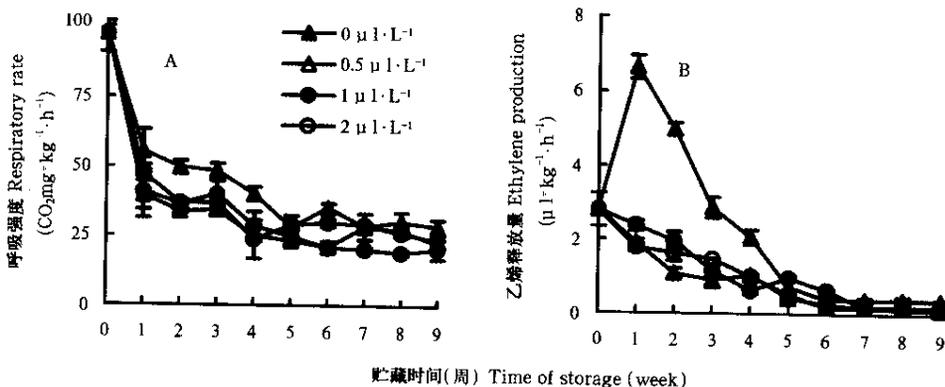


图 1 1-MCP 处理对豆荚呼吸强度(A)和乙烯释放量(B)的影响

Fig. 1 Effects of 1-MCP treatment on respiratory rate(A) and ethylene production(B) of vegetable soybean pods

在贮藏期间 ASA-POD 活性先降后升,在第 5 周时出现 1 个高峰,接着又逐渐下降(图 2-A)。采用 1-MCP 处理的豆荚保持了较高的 ASA-POD 活性。豆荚中 Vc 含量在贮藏期间逐渐下降(图 2-B),处理豆荚 Vc 含量相对对照始终处于较高水平。

2.3 1-MCP 处理对豆荚 SOD 活性和 O_2^- 生成量的影响

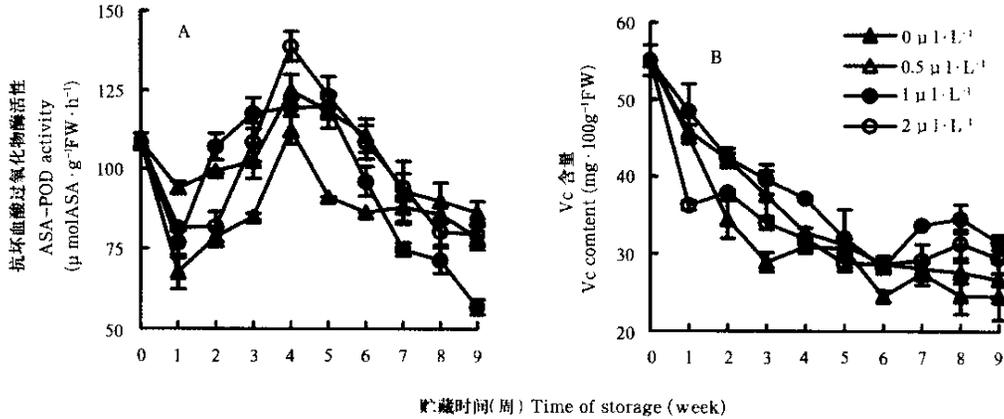


图 2 1-MCP 处理对豆荚 ASA-POD 活性(A)和 Vc 含量(B)的影响

Fig.2 Effects of 1-MCP treatment on ASA-POD activity (A) and Vc content (B) in vegetable soybean pods

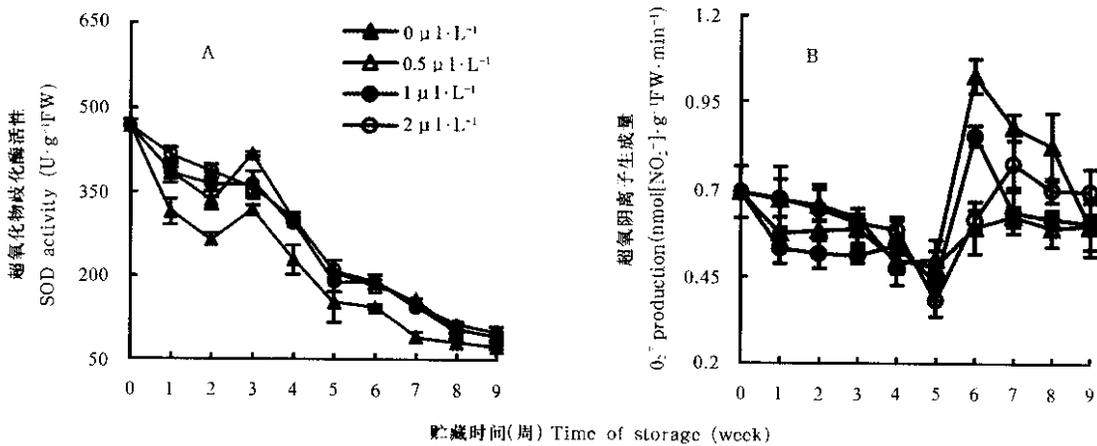


图 3 1-MCP 处理对豆荚 SOD 活性(A)和超氧阴离子生成量(B)的影响

Fig.3 Effects of 1-MCP treatment on SOD activity(A) and O_2^- production(B) in vegetable soybean pods

2.4 1-MCP 处理对豆荚叶绿素和 MDA 含量的影响

贮藏期间豆荚中叶绿素含量逐渐降低(图 4-A),1-MCP 处理可使豆荚叶绿素含量下降速度延缓,从而保持较高的叶绿素含量,这种作用随着处理浓度的增加而加强。豆荚中 MDA 含量变化如图 4-B 所示,在贮藏前 5 周变化较小,5 周后 MDA 含量迅速上升。采用 1-MCP 处理可以抑制豆荚中 MDA

的积累,保持较低的含量。豆荚 SOD 活性随贮藏期延长而逐渐下降,采用 1-MCP 处理可以延缓 SOD 活性的下降(图 3-A)。在贮藏的前 4 周,超氧阴离子的生成量逐渐降低,但在第 5 周后,豆荚中超氧阴离子生成量迅速增加,并在第 6 周达到高峰,而后逐渐下降(图 3-B)。采用 1-MCP 处理可抑制超氧阴离子的产生,降低超氧阴离子生成量峰值,这与豆荚中 SOD 活性较高有关。

的积累,保持较低的含量。

2.5 1-MCP 处理对豆荚 PAL 和 POD 活性的影响

豆荚中 PAL 活性在贮藏前期逐渐上升(图 5-A),并在第 3 周达到高峰,然后下降,采用 $0.5 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 1-MCP 处理可以显著提高 PAL 的活性,而高浓度($2 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$)1-MCP 处理在贮藏后期促使 PAL 活性迅速下降。豆荚中 POD 活性在贮

藏期间下降较快,采用 1-MCP 处理对豆荚 POD 活性无显著影响(图 5-B)。

2.6 1-MCP 对豆荚腐烂指数和木质素含量的影响

在前 5 周,豆荚的腐烂指数变化不大,但随后豆

荚腐烂指数迅速上升,第 6 周的腐烂指数约是第 5 周的 3 倍(图 6-A)。1-MCP 可以抑制褐腐病的发生,但采用高浓度($2 \mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$)1-MCP 处理在贮藏后期却促进豆荚褐腐病的发生,表现为腐烂指数较高。

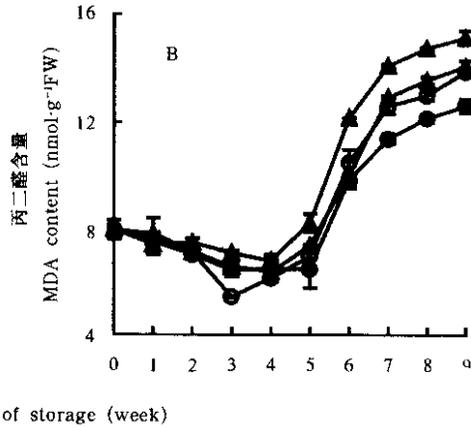
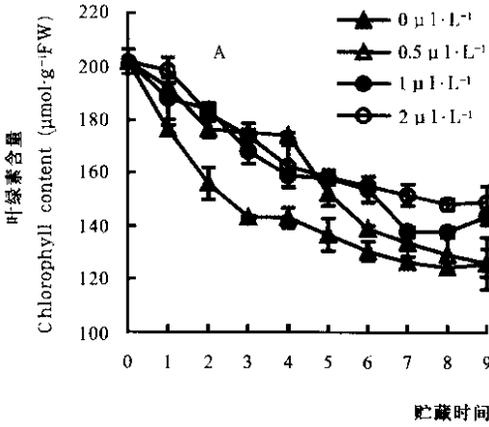


图 4 1-MCP 处理对豆荚叶绿素(A)和 MDA 含量(B)的影响

Fig.4 Effects of 1-MCP treatment on chlorophyll(A) and MDA content(B) in vegetable soybean pods

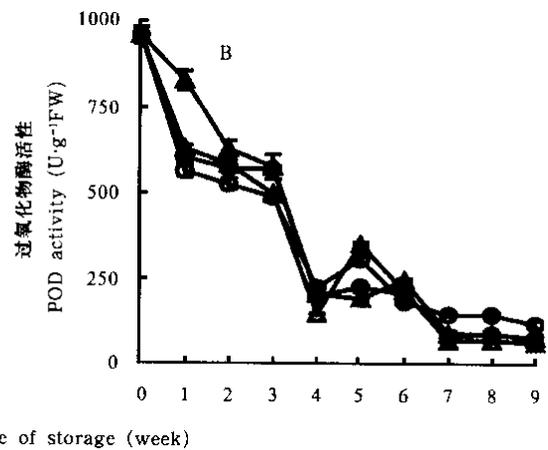
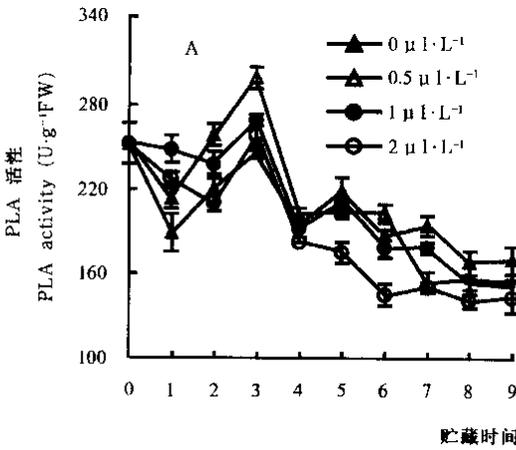


图 5 1-MCP 处理对豆荚 PAL(A)和 POD(B)活性的影响

Fig.5 Effects of 1-MCP treatment on PAL(A) and POD(B) activity in vegetable soybean pods

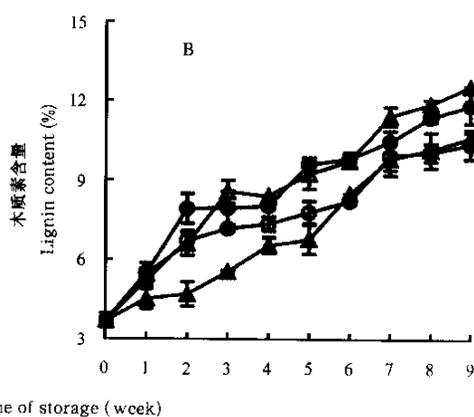
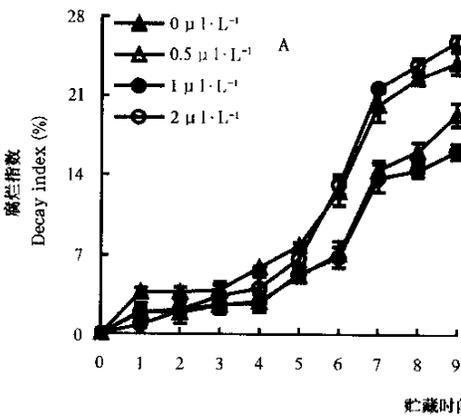


图 6 1-MCP 处理对豆荚腐烂指数(A)和木质素含量(B)的影响

Fig.6 Effects of 1-MCP treatment on decay index(A) and lignin content(B) in vegetable soybean pods

在贮藏期间,豆荚中木质素含量不断上升(图 6-B)。在前 6 周 1-MCP 处理促使豆荚中木质素迅速积累,但在随后处理豆荚中木质素积累速度下降,这可能与豆荚中 PAL 活性的下降有关,这种趋势随着处理浓度的提高而增强。

3 讨论

3.1 1-MCP 对菜用大豆衰老的影响

乙烯在果蔬采后贮藏中扮演着重要的角色,它可以加速采后果蔬产品的衰老和后熟,特别是起到加速绿色果蔬产品黄化的作用。1-MCP 作为新型的乙烯受体抑制剂,能特异性地和乙烯受体结合,一方面可以阻止乙烯与其受体结合,从而阻止乙烯发挥作用^[7],另一方面,1-MCP 也可以抑制 ACS、ACO 基因的表达,减少乙烯的合成和释放,并且可以钝化植物对乙烯的响应^[8],因此 1-MCP 具有抗乙烯的效应。黄化是果蔬采后衰老的一个重要特征,其发展进程与乙烯密切相关^[9]。贮藏环境中乙烯的积累促进了香蕉果实的后熟黄化^[10]和花椰菜花蕾小花的开花和黄化^[11],采用 1-MCP 处理有效地抑制了这些果蔬黄化的发生。本试验中,菜用大豆采后迅速出现了乙烯释放高峰,豆荚叶绿素含量降低并伴随黄化发生,采用 1-MCP 处理抑制了菜用大豆乙烯的合成和释放,保持了豆荚中的叶绿素含量,从而抑制豆荚的黄化,这说明乙烯在菜用大豆豆荚采后黄化中起到了重要作用。

植物活性氧代谢的通畅与植物的衰老进程密切相关。在植物衰老过程中,活性氧降解酶活性的下降和丧失,会导致植物自身活性氧代谢的失调,植物体内积累活性氧,诱导膜脂中不饱和脂肪酸发生过氧化作用,导致膜脂过氧化产物(MDA)和质膜透性增加,对植物造成伤害,加速衰老。植物体内一般存在着酶促和非酶促两大类活性氧清除系统,酶促系统中主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(ASA-POD)、过氧化氢酶(CAT)等,而非酶促系统则有抗坏血酸(ASA)、 α -生育酚(V_E)和类胡萝卜素等^[12]。保持植物体内较高的活性氧清除酶活性和非酶抗氧化物质的含量,使活性氧代谢通畅,减少活性氧的积累,可有效地减轻 MDA 积累和叶绿素的降解,延缓衰老。本试验中,采后豆荚中 SOD 活性和 ASA 含量逐渐降低,ASA-POD 活性在出现一次高峰之后也逐渐降低,5 周后豆荚中 O₂⁻ 生成速度加快,MDA 积累增加,叶绿素含量持续下降。1-MCP 处理保持豆荚中较高的 SOD、ASA-

POD 活性和 ASA 含量,使豆荚中 O₂⁻ 的生成量低于对照,抑制膜脂氧化,减少 MDA 的积累,减慢豆荚中的叶绿素降解速度,保持豆荚叶绿素含量,这说明 1-MCP 处理可维持菜用大豆贮藏期间活性氧代谢的平衡,从而延缓衰老进程。

3.2 1-MCP 对菜用大豆采后腐烂发生的影响

在逆境胁迫中,植物会合成一系列信号分子,如水杨酸、茉莉酸和乙烯等,并传递到植物的各个部位产生系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR),使植物体内的抗病因子被激活,木质素合成关键酶 PAL 活性上升,加速植物体内木质素的积累,加固细胞结构以抵御外界微生物的侵袭^[13]。植物体内 PAL 活性和木质素含量的高低与植物自身抗病能力的强弱呈密切正相关^[14]。Jiang^[15]在草莓上的研究发现,低浓度 1-MCP 处理可以保持草莓贮藏期间较高的 PAL 活性和酚类物质含量,降低腐烂,而高浓度 1-MCP 处理降低了 PAL 活性和酚类物质含量,增加腐烂发生。菜用大豆贮藏期间,随着自身的衰老,豆荚易遭受病原菌的侵染而发生病害^[5]。在本试验中,菜用大豆贮藏期间豆荚中 PAL 活性逐渐上升,在第 3 周时达到高峰,3 周后 PAL 活性下降,同时伴随着腐烂指数的增加。1-MCP 可以提高豆荚中 PAL 的活性,采用 0.5 $\mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 1.0 $\mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$ 1-MCP 处理使豆荚中 PAL 活性显著高于对照,与此对应的是豆荚中木质素的积累量高于对照,同时褐腐病的发生较少。而采用 2 $\mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 1-MCP 处理,使豆荚在第 4 周后 PAL 活性下降加快,贮藏后期 PAL 活性显著低于对照,豆荚中木质素积累减慢,褐腐病发生增多。由此可见,菜用大豆 PAL 活性与木质素积累水平的高低直接影响到豆荚腐烂的发生。

乙烯在植物体内的作用十分重要,它不但影响到植物的衰老黄化^[1],同时,乙烯的释放和植物防卫体系中的各个反应密切相关。虽然高浓度乙烯不利于果蔬的贮藏,但少量的内源乙烯则为果蔬抵抗不良环境及病害所必需^[16]。在本试验中,高浓度(2 $\mu\text{l}\cdot\text{L}^{-1}$)1-MCP 处理在贮藏后期促进了菜用大豆腐烂的发生,其原因可能是 1-MCP 阻碍了机体防御病害侵染正常所需的对乙烯的响应,也可能是 1-MCP 导致有毒物质的产生,破坏组织正常的生理机能之故^[17]。

References

- [1] Abeles F B, Morgan P W, Saltvaite M E. *Ethylene in Plant Bi-*

- ology(2nd ed). New York : Academic Press , 1992 : 398.
- [2] Serek M , Sisler E C , Reid M S. Novel gaseous ethylene binding inhibitor prevents ethylene effects in potted flowering plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1994 , 119(6): 1 230 - 1 233.
- [3] Jiang Y M , Joyce D C , Macnish A J. Extension of the shelf life of banana fruit by 1-methylcyclopropene in combination with polyethylene bags. *Postharvest Biology Technology* , 1999 , 16 : 187 - 193.
- [4] 苏小军 , 蒋跃明. 新型乙烯受体抑制剂—1-甲基环丙烯在采后园艺作物中的应用. *植物生理学通讯* , 2001 , 37(4): 361 - 364.
- Su X J , Jiang Y M. Application of a new inhibitor of ethylene perception , 1-methylcyclopropene in postharvest horticultural crops. *Plant Physiology Communications* , 2001 37(4): 361 - 364 .(in Chinese)
- [5] 苏新国 , 郑永华 , 张 兰 , 汪 峰 , 张益明. 壳聚糖涂膜对菜用大豆荚采后衰老和品质的影响. *植物生理学报* , 2001 , 27 (6): 467 - 472.
- Su X G , Zheng Y H , Zhang L , Wang F , Zhang Y M. Effects of chitosans coatings on postharvest quality and decay of vegetable soybean pods. *Acta Phytophysiologica Sinica* , 2001 , 27 (6): 467 - 472.(in Chinese)
- [6] Mishra N P , Mishra R K , Singhal G S. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperature in the presence of protein synthesis inhibitors. *Plant Physiology* , 1993 , 102 : 903.
- [7] Sisler E C , Serek M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level : recent developments. *Physiological Plantarum* , 1997 , 100 : 577 - 582.
- [8] Nakatsuka A , Shiomi S , Kubo Y. Expression and internal feedback regulation of ACC synthase and ACC oxidase genes in ripening tomato fruit. *Plant Cell Physiology* , 1997 , 38 (10): 1 103 - 1 110.
- [9] Sisler E C , Dupille E , Serek M. Effect of 1-methylcyclopropene and methylenecyclopropene on ethylene binding and ethylene action on cut flower. *Plant Growth Regulation* , 1996 , 18 : 79 - 86.
- [10] Jiang Y M , Joyce D C , Macnish A J. Response of banana fruit to treatment with 1-methylcyclopropene. *Plant Growth Regulation* , 1999 , 28 : 78 - 82.
- [11] Ku V V V , Wills R B H. Effect of 1-methylcyclopropene on the storage life of broccoli. *Postharvest Biology Technology* , 1999 , 17 : 127 - 132.
- [12] Dhindsa R S. Drought stress , enzymes of glutathione metabolism , oxidation injury and protein synthesis in *Tortula ruralis*. *Plant Physiology* , 1991 , 95 : 648 - 650.
- [13] Durner J , Shah J , Klessing D H. Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Science* , 1997 , 2 : 266 - 274.
- [14] Musel G , Schindler T , Spiegel R. Distribution of lignin primary and secondary cell wall of maize coleoptiles analyzed by chemical and immunology probes. *Planta* , 1997 , 201 : 146 - 159.
- [15] Jiang Y M , Joyce D C , Terry L A. 1-methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. *Postharvest Biology Technology* , 2001 , 23 : 227 - 232.
- [16] ODonnell P J , Calvert C , Atzorn R. Ethylene as a signal mediating the wound response to tomato plants. *Science* , 1996 , 274 : 1 914 - 1 917.
- [17] Porat R , Weiss B , Cohen L , Daus A , Goren R , Droby S. Effect of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of Shamouti oranges. *Postharvest Biology Technology* , 1999 , 15 : 155 - 163.

(责任编辑 卞海军)