

辛松林, 秦 文, 孙传红, 等. 腐皮镰孢霉菌侵染及保鲜剂处理对秋葵相关抗性酶的影响[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(5): 1161-1168.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.05.027

腐皮镰孢霉菌侵染及保鲜剂处理对秋葵相关抗性酶的影响

辛松林^{1,2}, 秦 文¹, 孙传红², 徐 丹², 黄 倩², 毛美丹², 方子豪²

(1. 四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川旅游学院食品学院, 四川 成都 610100)

摘要: 为研究秋葵果实响应外界胁迫反应及合理利用果实抗性酶的保护功能, 以川秋葵为试验材料, 采用人工接种腐皮链孢霉菌和保鲜剂处理的方法, 研究秋葵果实抗性酶的变化。结果表明, *POD*、*PPO*、*PAL*、*C4H*、*4CL*、*CAD* 和 *TAL* 参与了秋葵果实响应腐皮链孢霉菌侵染和成熟衰老的反应过程。*4CL*、*POD*、*PPO* 在整个腐皮链孢霉菌侵染阶段活性持续增高起着重要的防御作用;*PAL*、*CAD* 在腐皮链孢霉菌侵染的 4 d 内活性增高, 且在整个侵染阶段都保持了较高的活性;*C4H* 在腐皮链孢霉菌侵染的 3 d 内起着重要的防御作用;*TAL* 在侵染 24 h 迅速启动响应反应。不同保鲜剂对抗性酶活性表达的诱导作用不同, 1-MCP 与壳聚糖复合处理对维持果实抗病性和采后品质的效果最好。

关键词: 川秋葵; 腐皮链孢霉菌; 保鲜剂; 抗性酶

中图分类号: S649 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)05-1161-08

Effects of *Fusarium solani* infection and preservative treatment on resistance associated enzyme from okra

XIN Song-lin^{1,2}, QIN Wen¹, SUN Chuan-hong², XU Dan², HUANG Qian², MAO Mei-dan², FANG Zi-hao²

(1. College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 2. College of Food Science, Sichuan Tourism College, Chengdu 610100, China)

Abstract: In order to study the response of okra fruits to the external stress and the protection of fruit resistant enzyme, the changes of resistant enzymes in okra fruits were studied by artificially inoculating *Fusarium solani* and preservative treatment methods. The results showed that *POD*, *PPO*, *PAL*, *C4H*, *4CL*, *CAD* and *TAL* were involved in the response of okra fruits to the ripening and senescence and infection of *Fusarium solani*. *4CL*, *POD* and *PPO* played an important role in the defense of the constantly increasing activity during the infection stage of *Fusarium solani*. The activities of *PAL* and *CAD* increased within four days of the inoculation of *Fusarium solani* and maintained the relatively high activity throughout the infection stage. *C4H* played an important defense role within three days of the infection by *Fusarium solani*. The response of *TAL* was activated rapidly within 24 hours of infection. However, different preservatives had different induction

effects on the active expression of resistant enzyme. The combination of 1-MCP and chitosan was best for maintaining the disease resistance of fruits and postharvest quality.

Key words: Sichuan okra; *Fusarium solani*; preservatives; resistant enzyme

收稿日期: 2017-11-04

基金项目: 四川省科技厅应用基础计划项目(2016JY0119); 四川省教育厅自然科学重点项目(18ZA0367); 四川省大学生创新创业计划项目(201611552053)

作者简介: 辛松林(1981-), 男, 辽宁大连人, 博士研究生, 副研究员, 从事农产品加工与贮藏方面的研究。(E-mail) 23016024

@ qq.com

通讯作者: 秦 文, (E-mail) qinwen1967@ yahoo.com

秋葵, 又称黄秋葵, 属于锦葵科秋葵属一年生草

本植物,由于其富含果胶、黄酮及人体必需氨基酸,具有一定的保健功能,因此广受消费者喜爱,然而由于秋葵表面积大,果皮表面附有细密绒毛,很容易受到病原菌的侵染而加速秋葵的腐败变质,影响了贮藏时间。秋葵受到病原菌侵染后,组织会产生一系列复杂的生理生化变化,以维持自身代谢的动态平衡,增强对病原菌的抵抗能力^[1]。其主要机理为:病原菌通过侵染健康组织,诱导产生活性氧分子,大量积累的活性氧对植株造成氧化伤害^[2]。另一方面,植株自身的抗氧化防御系统同时发生作用,植株体内的抗氧化物酶类如过氧化物酶(*PPO*)、多酚氧化(*POD*)等通过清除活性氧分子,从而诱导植株产生适应性响应。此外,苯丙烷代谢系统作为生成酚类物质的主要次生代谢途径,在植株抗逆境胁迫和适应性防御反应中起着重要作用^[3]。

秋葵果实对不同病原菌会表现出不同的抗性,课题组前期对诱导秋葵果实在贮藏过程中腐败的病原菌进行了研究,结果表明,腐皮链孢霉菌侵染是诱导果实腐败的主要原因,并分离纯化出腐皮链孢霉菌^[4]。腐皮链孢霉菌是常见的土壤习居菌^[5],春天气温回升,土壤湿润,菌核开始萌发产生子囊盘和子囊孢子,从而侵染植株根茎部或基部叶片及其他组织,发病后产生菌丝,受害病叶与邻近健株接触即可传病^[6]。本试验研究腐皮链孢霉菌侵染前后及保鲜剂处理对秋葵相关抗性酶的影响,探讨秋葵在致病菌侵染和保鲜过程中相关抗性酶的变化规律,为进一步研究秋葵果实响应外界胁迫反应及合理利用果实抗性酶的保护功能提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

秋葵(品种为川秋葵):四川省植物工程研究院提供。选择无伤口、无病虫害、果荚长度 6.0~8.0 cm 的果实,采摘后及时置于 2~4 °C 保鲜库中预冷备用。

腐皮链孢霉菌孢子悬浮液配制:腐皮链孢霉菌从贮藏过程中发病的秋葵果实中分离获得,经纯化培养后,在 PDA 培养基上 28 °C 恒温培养 6 d,转入含有 10 ml 0.01% Tween 20 无菌水的 50 ml 三角瓶中,在微型旋涡混合器上振荡 15 s,再用双层纱布过滤,滤液用血球计数板计数,算出孢子悬浮液的含菌量后,最终稀释至含菌量为 1 ml 1×10^5 孢子的孢子

悬浮液,备用。

主要试剂:壳聚糖(脱乙酰度 $\geq 90\%$),购于成都科龙化工试剂厂;安喜布(有效质量浓度 0.45 mg/L,规格为 25 cm \times 20 cm),购于兰州嘉诚生物技术有限公司;其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-3200 扫描型紫外/可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司产品),冷冻高速离心机(美国 Thermo 公司产品),恒温水浴锅,电子天平,培养箱等。

1.3 试验方法

1.3.1 腐皮链孢霉菌侵染处理 选取预冷后的果实,将秋葵用 75% 酒精进行消毒,再用无菌水进行清洗,沥干水分待用。用灭菌过的打孔器(直径为 1.0 cm)在秋葵赤道部位表面打 8 个深度为 1.0~1.5 cm 的孔,其中 5 个孔不接菌,其余 5 个孔中分别接入 10 μ l 含菌量为 1 ml 1×10^5 孢子的腐皮链孢霉菌孢子悬浮液,再用保鲜膜包住打孔部位入泡沫包装箱,室温(25 °C \pm 2 °C,湿度 85%~95%)条件下贮藏,分别于接菌 1 d、2 d、3 d、4 d、5 d 取样,进行相关指标的测定。

1.3.2 保鲜样品处理^[7] 将挑选好的秋葵分为 4 组,每组 250 个,分别进行以下处理:(1)壳聚糖涂膜处理:将秋葵浸于 1.0% 的壳聚糖涂膜液中 60 s,待秋葵果实表面完全浸润,捞出后自然风干;(2)1-MCP 处理:将 0.5 片安喜布和 250 个秋葵同时放入带有纸屑的泡沫箱(340 mm \times 220 mm \times 180 mm)中,盖紧盖子,放置 24 h 后取出秋葵;(3)1-MCP 与壳聚糖复合处理:按照(1)的方法先处理秋葵,然后按照(2)的方法再次处理秋葵;(4)对照:以不做任何处理的秋葵为对照。

将上述 3 个处理和 1 个对照的秋葵置于常温(20 °C \pm 1 °C)条件下贮藏,相对湿度为 85%~90%,每 24 h 取样进行各相关指标的测定。

1.3.3 指标测定 苯丙氨酸解氨酶(*PAL*)活性测定参照 Liu 等^[8]的方法,酶活性单位为 U/(h \cdot g),FW。4-香豆酰-辅酶 A 连接酶(*4CL*)活性测定参照朱明华等^[9]的方法,酶活性单位为 U/(min \cdot g),FW。肉桂酸-4 羟化酶(*C4H*)活性测定参照 Lamb 和 Rubery 的方法^[10],酶活性单位为 U/(min \cdot g),FW。肉桂醇脱氢酶(*CAD*)活性测定参照 Morrison 等^[11]的方法,酶活性单位为 U/(h \cdot mg),FW。酪氨酸解氨酶(*TAL*)活性测定依

据 Wajahatullah Khan 等^[12]的方法,酶活性单位为 $U/(h \cdot mg)$,FW。过氧化物酶(*POD*)活性测定参照 Jiang 等^[13]的方法,酶活性单位为 $U/(min \cdot g)$,FW。多酚氧化酶(*PPO*)活性测定参照 Clairbone 等^[14]的方法,酶活性单位为 $U/(min \cdot g)$,FW。

1.4 数据处理

每组处理进行 5 个平行实验。试验数据采用 SPSS20.0 软件和 Origin 8.1 软件进行分析处理,选用 ANOVA 进行邓肯氏多重差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 腐皮链孢霉菌侵染及保鲜剂处理后秋葵果实 *POD* 活性的变化

由图 1 可知,在贮藏期内,腐皮链孢霉菌未侵染组 *POD* 活性变化缓慢,变化幅度较小;腐皮链孢霉菌侵染组 *POD* 活性呈持续上升的趋势,*POD* 活性在侵染第 5 d 达到最大值,为 $6.43 U/(min \cdot g)$,FW,极显著高于未侵染组($P < 0.01$)。这种现象的原因可能是秋葵受到腐皮链孢霉菌侵染后,迅速启动相关防御体系,果实 *POD* 活性上升以保持秋葵体内活性氧代谢平衡,维持膜结构完整性,抵御病原菌对秋葵果实的侵害。

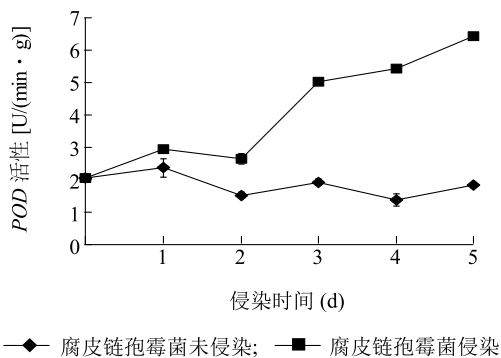


图 1 腐皮链孢霉菌侵染后秋葵果实 *POD* 活性的变化

Fig.1 Changes of *POD* activity in okra infected by *Fusarium solani*

由图 2 可知,贮藏期间,空白组的 *POD* 活性变化幅度较小,3 个保鲜剂处理组的 *POD* 活性呈先升高后下降的变化趋势,在贮藏第 1 d,1-MCP 处理组和复合处理组的 *POD* 活性达到最大值,复合处理组 *POD* 活性与对照组差异达极显著水平($P < 0.01$),1-MCP 处理组 *POD* 活性与对照组差异显著($P <$

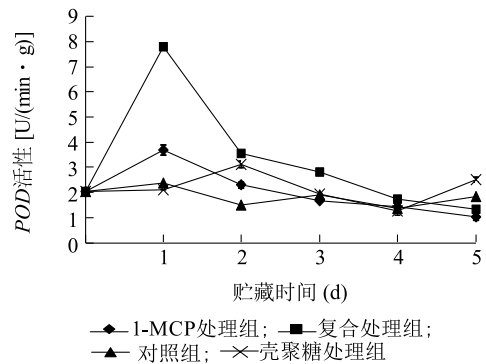


图 2 保鲜剂处理对贮藏期间秋葵果实 *POD* 活性的影响

Fig.2 Effect of preservative treatment on *POD* activity of okra fruit during storage

0.05);在贮藏第 2 d,壳聚糖处理组的 *POD* 活性达到最大值,与对照组差异显著($P < 0.05$),说明 1-MCP 和壳聚糖能够诱导 *POD* 的活性提高。随着贮藏时间的延长,保鲜剂处理组的 *POD* 活性下降,在贮藏第 5 d,对照组的 *POD* 活性高于 1-MCP 处理组和壳聚糖处理组。可能是因为贮藏前期保鲜剂处理能够有效提高 *POD* 活性,及时清除细胞内部的自由基,壳聚糖本身也是一种广谱杀菌剂,这对提高秋葵适应性防御能力非常重要;贮藏后期,由于病原菌的侵染和组织老化,对照组上调 *POD* 活性以响应组织氧化和病原菌侵染的反应过程。

2.2 腐皮链孢霉菌侵染及保鲜剂处理后秋葵果实 *PAL* 活性的变化

腐皮链孢霉菌侵染诱导 *PAL* 活性增强。由图 3 可知,*PAL* 在腐皮链孢霉菌侵染的第 1 d 迅速启动响应反应,活性迅速升高,随后 3 d 活性缓慢上升,在第 4 d 达到最大值,为 $638.622 U/(h \cdot g)$,FW,随后下降;未侵染组 *PAL* 活性呈先升后降趋势,在第 4 d 出现最大值为 $454.895 U/(h \cdot g)$,FW。*PAL* 是苯丙氨酸代谢途径的限速酶,参与了多种激发子诱导的抗性^[15],其活性增强是一种自我保护机制的反应,有助于抵御病原菌的侵染^[16]。

由图 4 可知,*PAL* 活性呈现波动性变化。贮藏前 2 d,3 个保鲜处理组的 *PAL* 活性高于对照组。贮藏第 3 d,壳聚糖处理组的 *PAL* 活性低于对照组,并在此后保持相对较低的水平。这可能与壳聚糖对腐皮链孢霉菌孢子萌发和菌丝体生长具有抑制作用有关^[17]。贮藏第 4 d,1-MCP 处理组 *PAL* 活性低于复合处理组和对照组,这可能与 1-MCP 作为植物生

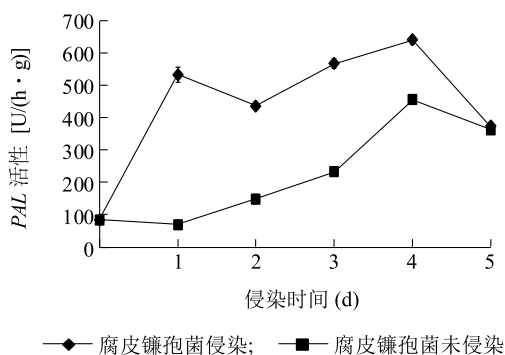


图3 腐皮链孢霉菌感染后秋葵果实 PAL 活性的变化
Fig.3 Changes of PAL activity in okra infected by *Fusarium solani*

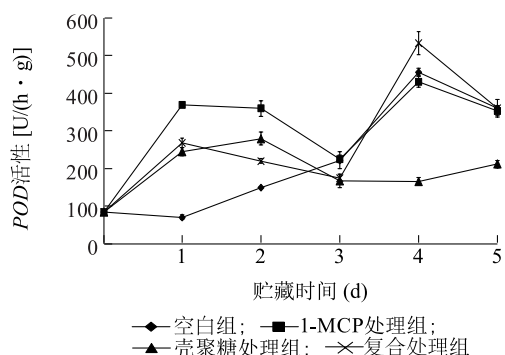


图4 保鲜剂处理对贮藏期间秋葵果实 PAL 活性的影响
Fig.4 Effect of preservative treatment on PAL activity of okra fruit during storage

长调节剂诱导 PAL 表达有关。复合处理组的 PAL 活性在第 4 d 达到最大值 532.5 U/(h·g), FW, 这单纯从 1-MCP 处理或是壳聚糖处理的结果很难解释,推测有可能与二者协同作用有关,诱导因子促进酶的合成是由于刺激了酶蛋白 mRNA 的形成^[18]。总体而言,在贮藏初期,保鲜剂处理对于 PAL 的活性有显著提高作用,可以提高秋葵内部植保素和木质素的生成速率,抵御组织的老化以及病原菌胁迫,随着贮藏时间延长,秋葵组织内部苯丙烷代谢趋于平衡稳定状态,保鲜剂对 PAL 活性的影响不大。

2.3 腐皮链孢霉菌感染及保鲜剂处理后秋葵果实 PPO 活性的变化

由图 5 可知,腐皮链孢霉菌未感染组 PPO 活性在感染期间呈先降后升的趋势,感染第 3 d 的 PPO 活性最低,感染第 5 d 的活性最高,为 0.548 9 U/(min·g), FW。其变化原因可能是随着贮藏时间的延长,秋葵组织衰老,产生活性氧的积累,诱导

PPO 活性升高去除自由基,延缓果实衰老进程。腐皮链孢霉菌感染组果实 PPO 活性呈现连续上升的趋势,在感染第 5 d 达到最大值,为 0.646 5 U/(min·g), FW,与腐皮链孢霉菌未感染组差异不显著($P>0.05$)。结果表明,PPO 参与了秋葵果实响应腐皮链孢霉菌感染的反应过程,在整个感染期间起着重要的防御作用。

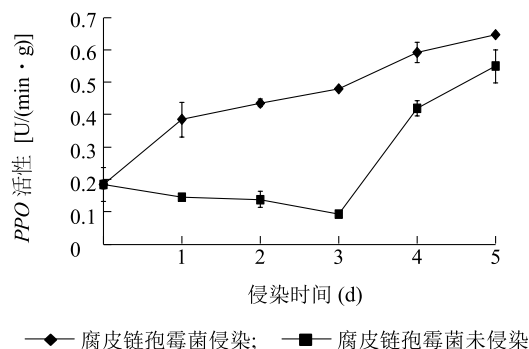


图5 腐皮链孢霉菌感染后秋葵果实 PPO 活性的变化
Fig.5 Changes of PPO activity in okra infected by *Fusarium solani*

由图 6 可知,1-MCP 处理组和复合处理组在贮藏期间的 PPO 活性变化呈持续上升趋势,在第 5 d 达到最大值;壳聚糖处理组在贮藏期间的 PPO 活性呈现先升后降的趋势,在第 3 d 达到最大值。在贮藏第 3 d,保鲜处理组 PPO 活性均极显著高于对照组($P<0.01$),可能是因为保鲜剂能诱导秋葵组织内部存在的 PPO 活性迅速上升,促进木质素以及抗菌醌类物质的形成,对植物组织起到一定的防御保护作用^[19]。由此可见,保鲜处理可以有效提高 PPO 活性。在贮藏后期,壳聚糖处理组 PPO 活性下降,这种现象的原因可能是随着贮藏时间延长,调控 PPO 各个基因表达不同,活性随之变化^[20]。对照组 PPO 活性在贮藏前 3 d 变化不大,从贮藏第 3 d 开始,PPO 活性迅速上升,在第 5 d 达到最大值,可能由于病原菌的感染、组织褐变,对照组 PPO 活性被诱导增强。

2.4 腐皮链孢霉菌感染及保鲜剂处理后秋葵果实 4CL 活性的变化

由图 7 可知,腐皮链孢霉菌未感染组在整个试验期间 4CL 活性上升缓慢,活性最大值为 34.49 U/(min·g), FW;腐皮链孢霉菌感染组在感染第 1 d 4CL 活性显著上升,随后下降,第 4 d 秋葵果实 4CL 活性达到最大值为 83.35 U/(min·g), FW,与

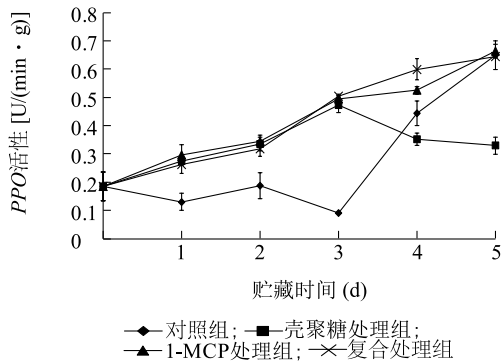


图6 保鲜剂处理对贮藏期间秋葵果实PPO活性的影响

Fig.6 Effect of preservative treatment on PPO activity of okra fruit during storage

未侵染组差异达极显著水平($P<0.01$)。结果表明,4CL参与了秋葵果实响应腐皮链孢霉菌侵染的反应过程。

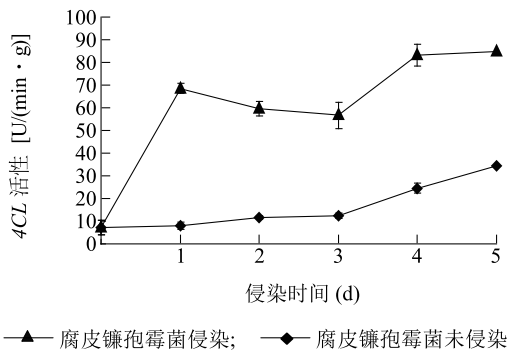


图7 腐皮链孢霉菌侵染后秋葵果实4CL活性的变化

Fig.7 Changes of 4CL activity in okra infected by *Fusarium solani*

由图8可知,随着贮藏时间的延长,对照组和保鲜处理组的4CL活性总体呈上升的趋势,经保鲜剂处理的秋葵果实4CL活性始终高于对照组。复合处理组4CL活性最大值为61.57 U/(min · g), FW, 1-MCP处理组4CL活性最大值为45.92 U/(min · g), FW, 壳聚糖处理组4CL活性最大值为46.27 U/(min · g), FW, 对照组4CL活性最大值为34.49 U/(min · g), FW, 复合处理组与对照组的4CL活性差异达极显著水平($P<0.01$), 1-MCP处理组、壳聚糖处理组与对照组的4CL活性差异不显著($P>0.05$)。

感官评价分别从色泽、质地、外观和接受度等方面进行评价。由图9可知,经保鲜剂处理的秋葵果实经过5 d的贮藏,其品质显著优于对照组。可能因为4CL控制着苯丙烷主途径向分支途径的转折,

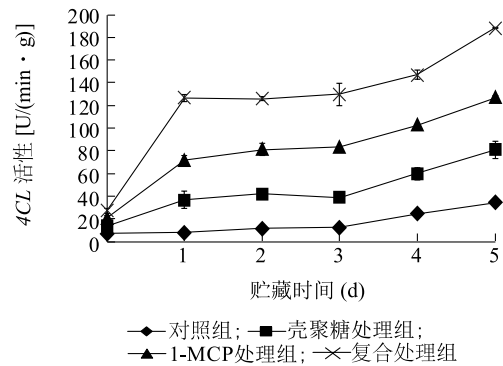


图8 保鲜剂处理对贮藏期间秋葵果实4CL活性的影响

Fig.8 Effect of preservative treatment on 4CL activity of okra fruit during storage

其代谢产物——酚类物质可氧化成能对病原菌产生直接毒性的醌类物质,随着酚类物质和木质素的积累,能有效抑制病原菌的扩展^[21]。

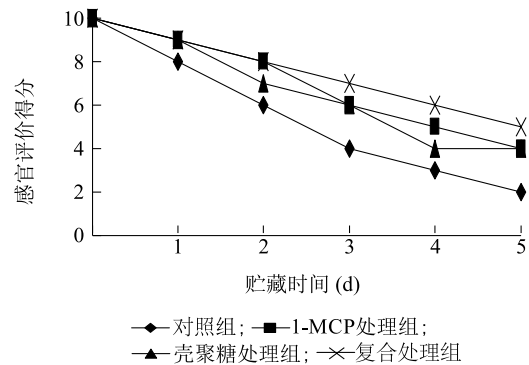


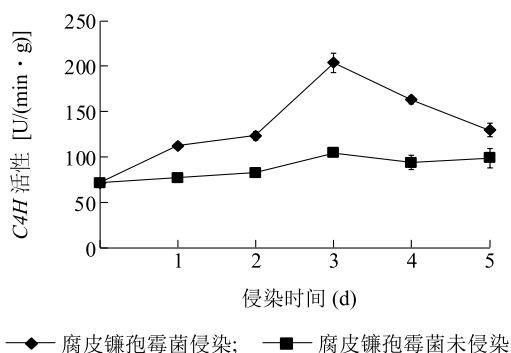
图9 不同处理对贮藏期间秋葵果实感官评价得分的影响

Fig.9 Effect of different treatments on sensory evaluation of okra fruit during storage

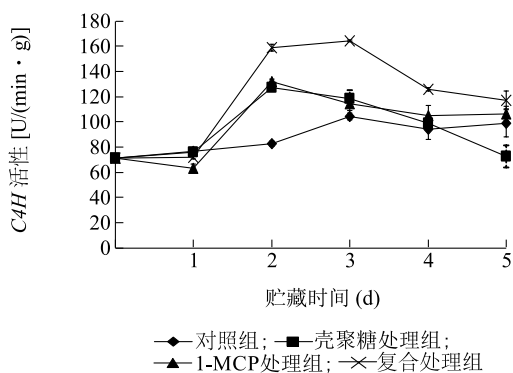
2.5 腐皮链孢霉菌侵染及保鲜剂处理后秋葵果实C4H活性的变化

C4H是苯丙烷代谢的关键酶^[22]。由图10可知,腐皮链孢霉菌侵染秋葵果实, C4H活性显著上升,在侵染第3 d达到最大值,为203.74 U/(min · g), FW, 随后下降。未侵染组C4H活性在整个贮藏期间的上升趋势缓慢,在贮藏第5 d达到最大值,为98.56 U/(min · g), FW。

与腐皮链孢霉菌未侵染组相比,侵染组C4H活性上升明显,这种现象可能的原因是秋葵受到腐皮链孢霉菌侵染后,果实产生系统抗性,诱导C4H活性增强,有利于苯丙烷代谢酚酸类物质的合成,由此形成的香豆酸、阿魏酸和咖啡酸等酚酸,抵御腐皮链孢霉菌的侵染^[23]。

图 10 腐皮链孢霉菌感染后秋葵果实 *C4H* 活性的变化Fig.10 Changes of *C4H* activity in okra infected by *Fusarium solani*

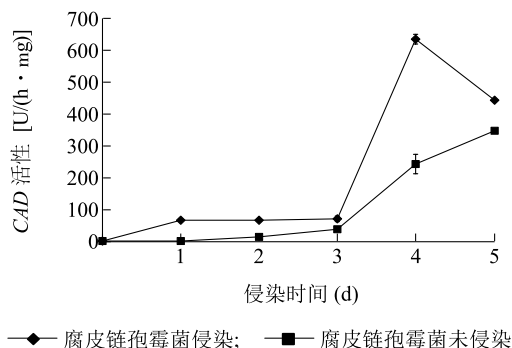
由图 11 可知,对照组的 *C4H* 活性在贮藏前期呈波动式上升趋势,在贮藏第 3 d, *C4H* 活性出现最大值,为 104.1 U/(min·g), FW。保鲜剂处理组呈现先升后降的趋势,壳聚糖处理组和 1-MCP 处理组均在贮藏第 2 d, *C4H* 活性达到最大值,分别为 127.0 U/(min·g), FW 和 132.0 U/(min·g), FW,而复合处理组则在贮藏第 3 d 时 *C4H* 活性达到最大值,为 164.0 U/(min·g), FW。结果表明, *C4H* 参与了秋葵果实响应腐皮链孢霉菌感染和保鲜剂处理的反应过程, *C4H* 活性升高是秋葵果实抵抗腐皮链孢霉菌感染和延长贮藏期的重要机制之一。

图 11 保鲜剂处理对贮藏期间秋葵果实 *C4H* 活性的影响Fig.11 Effect of preservative treatment on *C4H* activity of okra fruit during storage

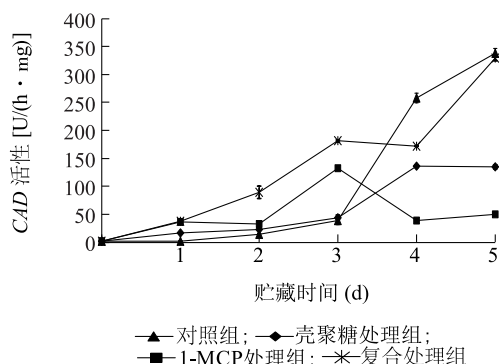
2.6 腐皮链孢霉菌感染及保鲜剂处理后秋葵果实 *CAD* 活性的变化

由图 12 可知,腐皮链孢霉菌感染组的 *CAD* 活性呈现先升后降的趋势,第 4 d 急剧上升, *CAD* 活性达到最大值,随后 *CAD* 活性下降;而未感染组呈逐步上

升趋势,在贮藏后期的 *CAD* 活性上升较快,可能是因为秋葵果实的老化诱导 *CAD* 活性上调。在整个感染期间,感染组的 *CAD* 活性较未感染组高,说明腐皮链孢霉菌感染能够诱导秋葵果实上调 *CAD* 活性以抵抗感染。

图 12 腐皮链孢霉菌感染后秋葵果实 *CAD* 活性的变化Fig.12 Changes of *CAD* activity in okra infected by *Fusarium solani*

由图 13 可知,对照组的 *CAD* 活性呈上升趋势,在贮藏第 3 d 急剧上升,活性最大值为 338.28 U/(h·mg),可能因为秋葵果实的快速衰老诱导了 *CAD* 活性的急剧上升。壳聚糖处理组和复合处理组的变化趋势基本一致,呈逐步上升趋势,最大值分别为 135.98 U/(h·mg) 和 328.86 U/(h·mg)。1-MCP 处理组的 *CAD* 活性呈现先升后降的趋势, *CAD* 活性第 3 d 达到最大值,为 131.82 U/(h·mg)。结果表明,在贮藏前期,保鲜剂均可诱导秋葵果实 *CAD* 活性升高,提高抗病性,延缓果实衰老;贮藏中后期,由于果实的衰老,病原菌感染,诱导了对照组 *CAD* 活性表达更高。

图 13 保鲜剂处理对贮藏期间秋葵果实 *CAD* 活性的影响Fig.13 Effect of preservative treatment on *CAD* activity of okra fruit during storage

2.7 腐皮链孢霉菌侵染及保鲜剂处理后秋葵果实 TAL 活性的变化

由图 14 可知,腐皮链孢霉菌侵染组的 TAL 活性呈波动式上升下降趋势,未侵染组 TAL 活性呈现先升后降的变化趋势,侵染组 TAL 最高活性与未侵染组 TAL 最高活性差异达极显著水平 ($P < 0.01$)。TAL 与 PAL 都属于芳香族解氨酶家族^[24],TAL 能不经 C4H 进行非氧化脱氨,直接将 L-酪氨酸(L-Tyr)转化为香豆酸,转化过程中的某些变化可能使得 TAL 活性出现波动。

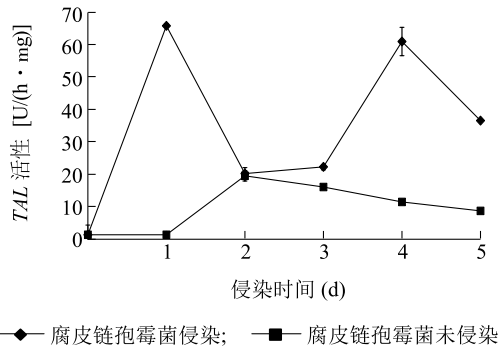


图 14 腐皮链孢霉菌侵染后秋葵果实 TAL 活性的变化

Fig.14 Changes of TAL activity in okra infected by *Fusarium solani*

由图 15 可知,复合处理组和 1-MCP 处理组 TAL 活性在贮藏前 4 d 呈持续上升趋势,复合处理组 TAL 活性最大值达到 65.11 U/(h·mg),1-MCP 处理组最大值为 58.03 U/(h·mg);壳聚糖处理组 TAL 活性呈波动式上升,最大值出现在贮藏第 4 d,为 42.09 U/(h·mg);对照组 TAL 活性呈先升高后降低的趋势,最大值出现在贮藏第 2 d,为 19.52 U/(h·mg)。

3 讨论

果实组织采收后由于病原菌侵染会产生一系列复杂的生理生化变化,以维持自身代谢的动态平衡,诱导抗病性是采后果实贮藏保鲜的重要机制之一。果蔬中含有大量的抗性酶,在成熟衰老、病原侵染、机械损伤过程中都能诱导抗性酶做出有效响应,但是不同环境下抗性酶的变化规律是不一样的。4CL、POD、PPO 在整个腐皮链孢霉菌侵染阶段活性持续增高起着重要的防御作用;PAL 是苯丙烷类代谢途径中与抗菌功能产物形成相关的关键酶和限速酶,为木质素和植保素的合成提供前体,在植物早期

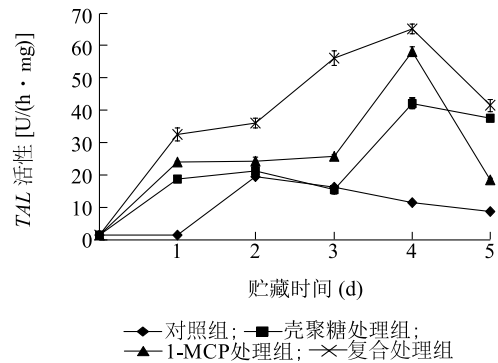


图 15 保鲜剂处理对贮藏期间秋葵果实 TAL 活性的影响

Fig.15 Effect of preservative treatment on TAL activity of okra fruit during storage

防卫反应中具有重要的作用。PAL 在腐皮链孢霉菌侵染的 4 d 内活性持续增高,且在整个侵染阶段都保持了较高的活性;在腐皮链孢霉菌侵染试验中,侵染组和对照组的 CAD 活性在第 4 d 显著上升,且侵染组升高的幅度显著高于对照组。C4H、4CL、CAD 和 TAL 是木质素合成的关键酶^[25],它们活性的高低不仅影响木质素的含量、木质素单体的组成,而且影响酚类物质、植保素、类黄酮等抗菌物质的生物合成^[26],这些次级代谢产物在植物的成熟衰老、抵御病虫害、抗逆反应等方面发挥着重要作用^[27]。侵染组 TAL 活性出现波动性变化可能由于 L-酪氨酸(L-Tyr)转化为香豆酸过程中的某些复杂反应所致,有待于对 TAL 催化机制深入研究。保鲜试验结果表明,抗性酶 POD、PPO、PAL、C4H、4CL、CAD 和 TAL 参与了秋葵果实响应成熟衰老和病原菌侵染的反应过程,然而不同保鲜剂对抗性酶活性表达的诱导作用不一样,包括 POD、PPO、PAL、C4H、4CL、CAD 和 TAL 的酶活性升高以抵抗秋葵果实的成熟衰老以及病原菌侵染,维持果实的抗病性和采后品质。综合考虑,复合处理组的效果最好。这与马铃薯块茎干腐病^[28]、猕猴桃灰葡萄孢霉^[29]、杏果实抗病性^[30]和厚皮甜瓜采后病害^[31]中的研究结果相类似。但是,保鲜剂是如何在分子水平上调控秋葵果实抗性酶表达的机制尚需进一步研究。

本试验通过研究腐皮链孢霉菌侵染黄秋葵后抗性酶 POD、PPO、PAL、C4H、4CL、CAD 和 TAL 活性的变化发现,这些抗性酶在腐皮链孢霉菌侵染的黄秋葵果实中都能进行有效响应,且在未侵染组中不同保鲜剂处理对这些抗性酶活性表达的诱导作用不同,试验结

果表明,1.0%的壳聚糖和 0.45 mg/L 的 1-MCP 复合处理保鲜效果最好。

参考文献:

- [1] 刘招龙,张绍铃,孙益林.梨叶片感染轮纹病菌后的生理变化[J].植物保护,2007,32(6):78-80.
- [2] 闫媛媛,胡文忠,姜爱丽,等.茉莉酸甲酯和乙烯利处理对鲜切富士苹果抗氧化酶活力和苯丙烷代谢的影响[J].食品工业科技,2015,36(16):324-327,332.
- [3] 林晓姿,何志刚,李维新,等.外源乙烯胁迫对枇杷果实若干品质及 PPO 活性的影响[J].福建农业学报,2009,24(5):467-470.
- [4] 辛松林,焦露,徐晓雪,等.川秋葵 1 号采后菌核病原菌鉴定及其生物学特性研究[J].食品工业科技,2017,12(38):186-190.
- [5] 郑建秋,师迎春,胡铁军.蔬菜菌核病的识别与防治[J].中国蔬菜,2005,1(2):53-54.
- [6] 曹福祥,戚佩坤.腐皮镰孢霉的现代分类学[J].华南农业大学学报,1991,2:66-73.
- [7] 张慧琴,毛雪琴,肖金平,等.猕猴桃溃疡病病原菌分子鉴定与抗性材料初选[J].核农学报,2014,28(7):1181-1187.
- [8] LIU H X, JIANG W B, BI Y, et al. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms[J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 35(3):263-269.
- [9] 朱明华,欧阳光察,薛应龙.黄瓜免疫诱导过程中 G6PD、PAL、4CL、PO 活性和木质素含量的变化[J].上海农业学报,1990,6(2):21-26.
- [10] LAMB C J, RUBERY P H. A spectrophotometric assay for trans-cinnamic acid 4-hydroxylase activity[J]. Analytical Biochemistry, 1975, 68(2):554-561.
- [11] MORRISON T A, KESSLER J R, HATFIELD R D, et al. Activity of two lignin biosynthesis enzymes during development of a maize internode[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1994, 65(2):133-139.
- [12] WAJAHATULLAH K, B PRITHIVIRAJ, DL SMITH. Photosynthetic response of corn and soybean, to foliar application of Salicylates[J]. Journal of Plant Physiology, 2003, 160(5):485-92.
- [13] JIANG A L, TIAN S P, XU Y. Effect of CA with high-O₂ or high-CO₂ concentrations on postharvest physiology and storability of sweet cherry[J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(8):925-930.
- [14] CLAIRBONE A. CaTALase activity. In: Greenwald W.A. (ed.) Handbook of methods of oxygen radical research[M]. Boca Raton: CRC press, 1985:283-284.
- [15] MAUCH-MANI B, SLUSARENKO A J. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of Arabidopsis to *Peronospora parasitica*[J]. The Plant Cell, 1996, 8(2):203-212.
- [16] WHETTEN R, SEDEROFF R. Lignin biosynthesis[J]. The Plant Cell, 1995, 7(7):1001-1013.
- [17] 李美芹.壳聚糖抑制番茄叶霉病菌的活性与诱导抗性及其机理研究[D].青岛:中国海洋大学,2007.
- [18] 曾永三,王振中.苯丙氨酸解氨酶在植物抗病反应中的作用[J].仲恺农业技术学院学报,1999,12(3):56-65.
- [19] YOU Y L, JIANG Y M, SUN J, et al. Effects of short-term anoxia treatment on browning of fresh-cut Chinese water chestnut in relation to antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2012, 132(3):1191-1196.
- [20] 魏敏,周会玲,陈小利,等.低温贮藏对鲜切富士苹果褐变的影响[J].西北农林学院学报,2011,26(5):131-134.
- [21] REIMERS P J, LEACH J E. Race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* conferred by bacterial blight resistance gene Xa-10 in rice (*Oryza sativa*) involves accumulation of a lignin-like substance in host tissues[J]. Molecular Plant Pathology, 1991, 38(1):39-55.
- [22] 李莉,赵越,马君兰.苯丙氨酸代谢途径关键酶: PAL、4CL 研究新进展[J].生物信息学,2007,5(4):187-189.
- [23] 张树武,徐秉良,刘佳等.白粉病菌侵染对美洲南瓜不同抗性品种 PAL 基因表达量的影响[J].核农学报,2015,29(10):1876-1883.
- [24] 张峰,曾化伟,廖祥儒,等.微生物酪氨酸解氨酶的研究进展[J].食品与生物技术学报,2010,29(4):496-499.
- [25] DIXON R A, ACHNINE L, KOTA P, et al. The phenylpropanoid pathway and plant defence: a genomics perspective[J]. Molecular Plant Pathology, 2002, 3(5):371-390.
- [26] 欧阳光察,薛应龙.植物苯丙烷类代谢的生理意义及其调控[J].植物生理学通讯,2012,24(3):9-16.
- [27] 贺进红,张进标,宾金华,等.苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J].食品科技,2006,31(7):31-34.
- [28] 刘筱,潘静宇,李永才,等.寡雄蛋白(Oligandrin)处理对马铃薯块茎干腐病及苯丙烷代谢的影响[J].食品工业科技,2017,38(6):339-344,369.
- [29] 郭宇欢,张丽媛,何玲,等.银杏叶粗提物对猕猴桃灰葡萄孢霉的抑制[J].现代食品科技,2017(6):111-117.
- [30] 赵亚婷,朱璇,马玄,等.采前水杨酸处理对杏果实抗病性及苯丙烷代谢的诱导[J].食品科学,2015,36(2):216-220.
- [31] 范存斐,毕阳,王云飞,等.水杨酸对厚皮甜瓜采后病害及苯丙烷代谢的影响[J].中国农业科学,2012,45(3):584-589.

(责任编辑:姜华珏)