

NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实木质化劣变的影响

张美姿, 吴光斌, 陈发河*

(集美大学生物工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 为了探讨外源一氧化氮(NO)熏蒸处理对冷藏枇杷果实木质素代谢的影响,以‘解放钟’枇杷果实为试材,采用不同水平NO(0、5、15、25、35、45 $\mu\text{L/L}$)熏蒸处理,于5 $^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏,测定冷藏过程中枇杷果实的硬度、出汁率、可溶性总糖、可滴定酸、木质素含量及木质素代谢相关酶活性的变化。结果表明:NO熏蒸处理可延缓可溶性总糖及可滴定酸含量的下降,并抑制硬度的上升及出汁率的降低,较好地保持果实的商品品质。NO熏蒸处理显著抑制了苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶活性的上升,延缓了可溶性总糖含量的降低,且抑制了木质素含量的上升,从而延缓了冷藏枇杷果实木质化劣变进程,以15 $\mu\text{L/L}$ 和25 $\mu\text{L/L}$ NO处理效果较为明显。

关键词: 枇杷; 木质化; 一氧化氮; 苯丙氨酸解氨酶; 肉桂醇脱氢酶

Effect of Nitric Oxide Fumigation on Lignification of Loquat Fruits during Cold Storage

ZHANG Mei-zi, WU Guang-bin, CHEN Fa-he*

(College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The present study was designed to explore the effect of exogenous nitric oxide (NO) on lignification of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl. cv. Jiefangzhong) fruits during cold storage. The fruits were fumigated with (0, 5, 15, 25, 35 and 45 $\mu\text{L/L}$) NO gas. Fruit firmness, juice percentage, total soluble sugar, titratable acid and lignin content, and the enzyme activities related to lignin metabolism were analyzed during cold storage (5 $^{\circ}\text{C}$) of loquat fruits. The results indicated that nitric oxide treatments delayed the decline of total soluble sugar and titratable acid content. Meanwhile, NO fumigation inhibited the increase of fruit firmness and the decrease of juice percentage, thereby maintaining better commercial quality of loquat fruits. Nitric oxide treatments significantly inhibited the activities of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and cinnamylalcohol dehydrogenase (CAD), delayed the reduction of total soluble sugar, and inhibited the increase of lignin content, thus postponing the development of lignification of loquat fruits during cold storage. The treatments with nitric oxide at 15 and 25 $\mu\text{L/L}$ were more effective.

Key words: loquat fruits; lignification; nitric oxide; phenylalanine ammonia-lyase; cinnamylalcohol dehydrogenase

中图分类号: S667.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)16-0232-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201416045

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.),为蔷薇科(Rosaceae)枇杷属(*Eriobotrya*),是我国南方特色水果之一,因其果实味道鲜美、营养丰富而深受消费者喜爱。采后枇杷果实常温条件下贮藏时,果实可滴定酸含量迅速下降、风味变淡及容易腐烂,不耐贮藏^[1]。低温可有效抑制果实腐败,但又会使果实出现木质化败坏等冷害症状^[2],严重影响枇杷果实的食用品质。目前,一氧化氮(NO)正成为具有发展潜力的气体保鲜物质受到高度关注。研究发现,外源NO处理可减轻香蕉^[3]、日本李子^[4]、芒果^[5]、番茄^[6]、桃^[7]等多种果蔬采后冷害症状。此

外Yang Huqing^[8]和李鹏霞^[9]等在对采后竹笋的研究发现,NO处理可抑制采后竹笋木质素代谢相关酶活性的上升并减少木质素的积累,从而延缓其木质化败坏进程。Xu Maojun等^[10]认为,通过增加内源性NO水平可提高冷藏枇杷果实抗冷性。但有关外源NO处理对减轻冷藏枇杷果实木质化劣变研究报道较少。

本实验通过不同水平的NO处理,研究外源NO处理后冷藏枇杷果实木质素含量及木质素代谢相关酶活性的影响,探讨外源NO处理对冷藏枇杷果实木质化的调控机理,为NO在冷藏枇杷果实贮藏保鲜中的应用提供依据。

收稿日期: 2013-12-31

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31171777);福建省科技计划重点项目(2007N0046);

福建省自然科学基金项目(B0510026);厦门市科技计划项目(350Z20103024)

作者简介: 张美姿(1989—),女,硕士研究生,研究方向为农产品贮藏加工。E-mail: mzzhang1989@163.com

*通信作者: 陈发河(1960—),男,教授,硕士,研究方向为农产品贮藏加工。E-mail: fhchen@jmu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“解放钟”枇杷 (*Eriobotrya japonica* Lindl. cv. Jiefangzhong), 产自福建省莆田市常太镇, 选择八成熟、无病虫害、无机械伤、大小均匀的果实随机分为6组进行处理。

NO气体 (纯度99.5%以上) 林德气体 (厦门) 有限公司; 4-香豆酸 上海阿拉丁公司; 辅酶A、Adenosine triphosphate (ATP) (分析纯) 美国Sigma公司; NADP⁺ (生化试剂) 美国Solarbio公司; 肉桂酸 (分析纯)、溴化乙酰、L-苯丙氨酸 (生化试剂)、葱酮 (分析纯) 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

PSX智能型恒温恒湿培养箱 宁波莱福科技有限公司; UV-8000A紫外-可见分光光度计 厦门亿辰科技有限公司; TMS-Pro质构仪 美国FTC公司; DK-S26恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

参照朱树华等^[11]的方法, 枇杷果实熏蒸处理在室温25℃条件下进行。将枇杷果实放置于预先用N₂排除氧气的可密封容器内, 对6组果实分别通入梯度水平为0 (对照CK)、5、15、25、35、45 μL/L的NO气体, 持续密封2 h后取出, 每个处理果实4 kg左右, 各处理重复3次。处理结束后通风20 min, 将各处理果实置于5℃、相对湿度85%条件下贮藏, 定期取样, 测定各项生理指标。

1.3.2 可溶性总糖含量的测定

随机取5个果实并称重取5.0 g果肉组织, 参考陈建勋等^[12]的方法, 用葱酮比色法测定, 各处理重复3次。

1.3.3 可滴定酸 (titratable acid, TA) 含量的测定

随机取5个果实并称重取5.0 g果肉组织并参照韩雅珊等^[13]的方法, 用0.1 mol/L标准NaOH溶液滴定TA的含量, 以苹果酸含量换算。各处理重复3次。

1.3.4 硬度的测定

参照叶建兵等^[14]的方法并修改, 采用TMS-Pro质构仪测定, 探头 (PT-1) 直径5 mm, 测试前下行速率60 mm/min, 测试时下行速率30 mm/min, 测试后上行速率60 mm/min, 最小触发力0.3 N, 形变量50%, 两次下压间隔5 s。每组测定做6个平行, 各处理重复3次。

1.3.5 出汁率的计算

参照潘秀娟等^[15]方法, 随机取5个果实, 在果实赤道面用5 mm打孔器取圆柱形果肉, 于质构仪下挤压1次, 用称重法计算果样受压变形90%的质量损失率。各处理重复6次。

1.3.6 木质素含量的测定

参照Morrison^[16]、范存斐^[17]等的方法并修改, 随机取5个果实并称重取果肉4 g果肉组织于事先预冷研钵中, 加入少量预冷95%乙醇溶液冰浴研磨, 4 000 r/min离心5 min, 去上清液, 沉淀用95%乙醇冲洗3次, 再用乙醇-正己烷 (1:2, V/V) 冲洗3次, 收集沉淀并干燥, 将干燥物溶于2 mL 25%溴化乙酰冰醋酸溶液中, 70℃恒温水浴30 min, 然后加1 mL 2 mol/L NaOH溶液终止反应, 再加1 mL冰醋酸和0.1 mL 盐酸羟胺, 并用冰醋酸定容至5 mL。取40 μL用冰醋酸定容至10 mL, 在280 nm波长处测吸光度, 以A_{280 nm}/g表示木质素的含量, 以鲜质量计。各处理重复3次。

1.3.7 酶活性的测定

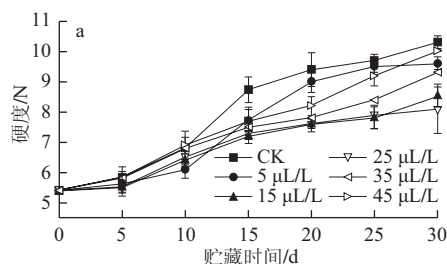
多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 活性测定: 参照Murr等^[18]的方法, 反应液于410 nm波长处测吸光度, 酶活力以每分钟变化0.001个吸光度为一个酶活性单位, 结果以U/(g·min)表示; 苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonialyase, PAL) 活性测定: 参照Zucker^[19]的方法测定, 反应液于290 nm波长处测吸光度, 酶活力以吸光度变化0.001为一个酶活力单位, 结果以U/g表示; 肉桂醇脱氢酶 (cinnamyl alcohol dehydrogenase, CAD) 活性测定: 参照Goffner等^[20]方法进行测定, 反应液在340 nm波长处测吸光度, 酶活力以吸光度变化0.001为一个酶活力单位, 结果以U/g表示; 4-香豆酸辅酶A连接酶 (4-coumarate CoA ligase, 4-CL) 活性测定: 参照Yun等^[21]的方法进行测定, 反应液在333 nm波长处测吸光度, 酶活力以吸光度变化0.001为一个酶活力单位, 结果以U/g表示。各处理重复3次。

1.4 数据分析

用Origin 7.5作图, 用SPSS 17.0软件进行统计处理, 数据处理用Duncan's新复极差法进行方差分析, 检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实硬度和出汁率的影响



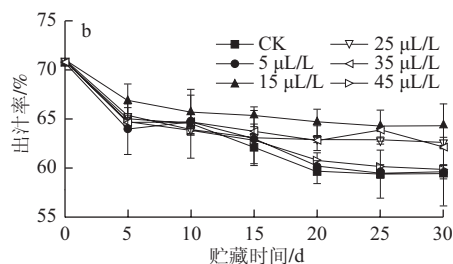


图1 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实硬度 (a) 和出汁率 (b) 的影响
Fig.1 Effect of NO treatment at various concentrations on firmness (a) and juice percentage (b) of loquat fruits

如图1所示, 在贮藏过程中枇杷果实硬度逐渐上升, 而出汁率则逐渐下降, 说明枇杷在采后冷藏期间逐渐出现木质化败坏症状; CK组及5、15、25、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理枇杷果实贮藏30 d后, 果实硬度分别上升了91.3%、78.3%、59.0%、50.9%、73.3%、85.7%, 其相应的果实出汁率分别下降了11.89%、11.77%、6.86%、8.60%、9.09%、11.43%。差异显著性分析表明, NO处理显著抑制了果实硬度的上升 ($P < 0.05$), 以25 $\mu\text{L/L}$ 和15 $\mu\text{L/L}$ NO处理效果较好且二者差异不显著 ($P > 0.05$); 相对于果实的出汁率, NO处理延缓了果实的出汁率, 但是5、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理与CK组之间, 25 $\mu\text{L/L}$ 与35 $\mu\text{L/L}$ NO处理间差异不显著 ($P > 0.05$), 而其他不同水平NO处理与CK组差异达极显著 ($P < 0.01$)。

2.2 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实可溶性总糖和TA含量的影响

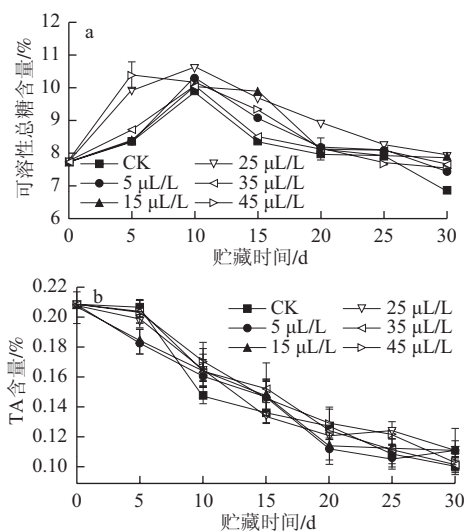


图2 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实总糖 (a) 与TA (b) 含量的影响
Fig.2 Effect of NO treatment at various concentrations on total soluble sugar content (a) and titratable acid content (b) of loquat fruits during cold storage

如图2a所示, 枇杷果实在贮藏期间可溶性总糖含量呈现先上升后下降的趋势。与CK组相比, NO处理可以

延缓枇杷果实可溶性总糖含量的降低, 5 $\mu\text{L/L}$ 和35 $\mu\text{L/L}$ NO处理间差异不显著 ($P > 0.05$), 而其他不同水平NO处理间差异均显著 ($P < 0.05$), 其中以25 $\mu\text{L/L}$ NO处理的果实可溶性总糖含量最高, 与CK组相比差异达极显著水平 ($P < 0.01$)。如图2b所示, 冷藏枇杷果实TA含量在整个贮藏期间呈下降趋势; 5、15、25、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理及CK组TA含量下降幅度分别为: 46.03%、46.21%、45.57%、50.28%、49.49%、50.63%, 说明不同水平NO处理可延缓TA的降低, 但是在整个贮藏过程中NO处理组与CK组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实木质素含量的影响

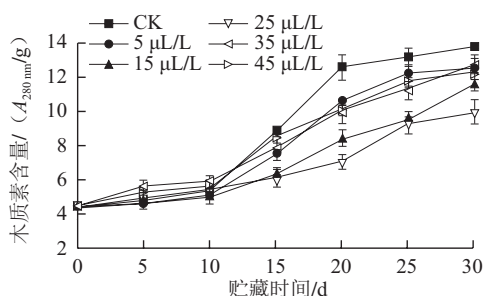


图3 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实木质素含量的影响
Fig.3 Effect of NO treatment at various concentrations on lignin content of loquat fruits during cold storage

如图3所示, 在整个贮藏期间, 果实木质素含量逐渐上升。在贮藏前10 d, NO处理的枇杷果实木质素含量与CK组差异不显著 ($P > 0.05$), 而在贮藏10~30 d, 不同水平NO处理的冷藏枇杷果实木质素含量均显著低于CK ($P < 0.05$), 而5、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理间差异不显著 ($P > 0.05$), 15 $\mu\text{L/L}$ 和25 $\mu\text{L/L}$ NO处理差异显著 ($P < 0.05$), 其中以25 $\mu\text{L/L}$ NO处理的枇杷果实木质素含量最低。结果表明, 在实验水平范围, 各水平NO处理可延缓冷藏枇杷果实木质化败坏进程。

2.4 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实PPO活性的影响

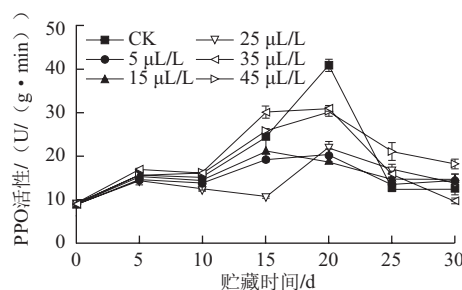


图4 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实PPO活性的影响
Fig.4 Effect of NO treatment at various concentrations on PPO activity of loquat fruits

如图4所示, 经过不同水平NO处理的枇杷果实, PPO活性与CK变化趋势类似, 均呈现先上升后下降的规律。CK组枇杷果实PPO活性在贮藏20 d后达到峰值, 随后急剧下降, 最后趋于平缓; 35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理的枇杷果实贮藏前15 d活性相对高于CK, 但差异不显著 ($P>0.05$), 而在15~20 d PPO活性低于CK, 差异显著 ($P<0.05$), 45 $\mu\text{L/L}$ NO处理在25~30 d时PPO活性高于CK组; 5、15 $\mu\text{L/L}$ NO处理的枇杷果实PPO活性在前20 d平缓上升, 分别在20 d和15 d时达到峰值, 而后又平缓下降; 25 $\mu\text{L/L}$ NO处理的枇杷果实贮藏前5 d时缓慢上升, 在5~10 d有所下降, 在15~20 d又上升并在20 d达到峰值, 随后缓慢下降并趋于平缓。总体上, 外源NO处理对枇杷果实PPO活性的抑制作用主要表现在贮藏中后期(10~25 d), 其中5 $\mu\text{L/L}$ 和15 $\mu\text{L/L}$ NO处理间差异不显著 ($P>0.05$), 而其他不同水平NO处理间差异均显著 ($P<0.05$), 以25 $\mu\text{L/L}$ NO处理效果较好。

2.5 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实PAL活性的影响

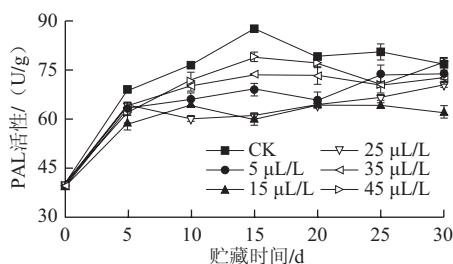


图5 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实PAL活性的影响

Fig.5 Effect of NO treatment at various concentrations on PAL activity of loquat fruits

如图5所示, 对照组(CK)处理枇杷果实PAL活性在贮藏前15 d迅速增加, 并于15 d时达到峰值, 之后有所下降, 当仍保持较高水平; 5、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理的枇杷果的PAL活性变化趋势与CK组一致, 在15 d达到峰值后有所下降并趋于平缓; 而15、25 $\mu\text{L/L}$ NO处理的枇杷果实的PAL活性在贮藏期间上升缓慢并最终保持在较低水平。差异显著性分析表明, NO处理显著抑制了PAL活性的上升 ($P<0.05$), 15、25 $\mu\text{L/L}$ NO处理在贮藏前25 d差异不显著 ($P>0.05$), 而在贮藏25 d后二者处理差异显著 ($P<0.05$), 其他不同水平NO处理间差异均显著 ($P<0.05$), 以15 $\mu\text{L/L}$ NO处理对PAL活性抑制效果最好, 差异达极显著 ($P<0.01$)。

2.6 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实CAD活性的影响

如图6所示, 不同水平NO处理对冷藏枇杷果实CAD活性的抑制效果不同, 5、15、25、35 $\mu\text{L/L}$ NO处理枇杷果实CAD活性低于CK且差异极显著 ($P<0.01$), 35 $\mu\text{L/L}$ NO处理对CAD的抑制效果最好, 差异显著性分析表明

5、35 $\mu\text{L/L}$ NO处理间差异不显著 ($P>0.05$), 15、25 $\mu\text{L/L}$ NO处理在贮藏前15 d差异显著, 15 d后二者差异不显著 ($P>0.05$), 而其他不同水平NO处理间差异显著 ($P<0.05$); 45 $\mu\text{L/L}$ NO处理的果实在第10天活性高于CK, 而后活性急剧下降并低于CK ($P<0.05$); CK组枇杷果实在10~25 d时CAD活性较高, 且在15 d时达到峰值, 在25 d后CAD活性开始下降但总体上维持在较高水平。说明NO处理有效抑制了冷藏枇杷果实CAD活性的上升。

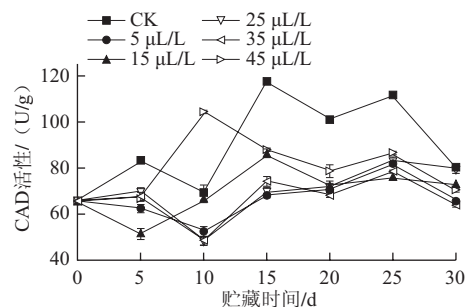


图6 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实CAD活性的影响

Fig.6 Effect of NO treatment at various concentrations on CAD activity of loquat fruits

2.7 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实4-CL活性的影响

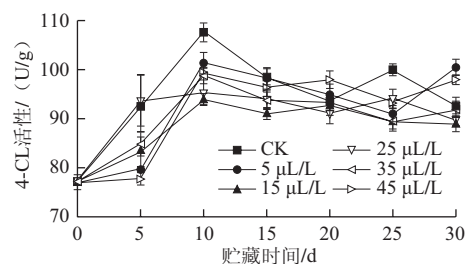


图7 不同水平NO熏蒸处理对冷藏枇杷果实4-CL活性的影响

Fig.7 Effect of NO treatment at various concentrations on 4-CL activity of loquat fruits

如图7所示, 不同水平NO处理的冷藏枇杷4-CL活性与CK的变化趋势均呈现先上升后下降的趋势。在贮藏前期, CK处理的枇杷果实4-CL活性急剧上升并在第10天达到峰值, 而后活性下降并维持在较高水平; 经过NO处理的枇杷果实4-CL活性在贮藏前15 d低于CK, 差异极显著 ($P<0.01$), 差异显著性分析表明5、25、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理间差异不显著 ($P>0.05$), 而其他不同水平NO处理间差异显著 ($P<0.05$), 以15 $\mu\text{L/L}$ NO处理对冷藏枇杷果实4-CL活性抑制效果最好, 而贮藏后期NO处理的枇杷果实4-CL活性与CK组差异不显著 ($P>0.05$)。结果表明, NO处理对枇杷果实4-CL活性的抑制作用主要在果实贮藏前中期(0~15 d), 而对枇杷果实贮藏后期的4-CL活性的抑制作用较小。

2.8 木质素代谢相关酶与木质素含量间的相关性分析

表1 木质素代谢相关酶活性与木质素含量间的相关性
Table 1 Correlation between lignin metabolism-related enzyme activities and lignin content

组别	PAL活性	PPO活性	CAD活性	4-CL活性
CK	0.581**	0.338	0.573**	0.219
5 $\mu\text{L/L}$ NO	0.667**	0.349	0.652**	0.496*
15 $\mu\text{L/L}$ NO	0.500*	0.191	0.434*	0.383
25 $\mu\text{L/L}$ NO	0.678**	0.398	0.695**	0.265
35 $\mu\text{L/L}$ NO	0.618**	0.095	0.366	0.384
45 $\mu\text{L/L}$ NO	0.676**	0.595**	0.051	0.634**

注：*, 显著相关, $P < 0.05$; **, 极显著相关, $P < 0.01$ 。

如表1所示, PAL活性与枇杷果实木质素含量相关程度较高, 但PPO与4-CL活性则与木质素含量相关性较低; 在0~25 $\mu\text{L/L}$ NO水平范围内, CAD活性与木质素含量间相关程度较高, 但当NO剂量超过25 $\mu\text{L/L}$ 后, CAD活性与木质素间的相关性逐渐减弱。结果表明, PAL和CAD活性在枇杷果实木质化进程中起主要作用, 而PPO和4-CL活性则与枇杷果实木质化进程关系不大。

3 讨论与结论

NO作为一个小分子信号物质, 近年来在植物冷胁迫中的作用逐渐受到关注。本研究结果表明, NO处理抑制了枇杷果实硬度的上升及出汁率的下降, 同时减少了木质素含量的累积, 延缓了冷藏枇杷果实木质化败坏进程。

近年来对植物木质素合成调控研究发现: 木质素生物合成途径主要分为苯丙烷代谢途径和木质素合成特异途径。研究表明, PAL、PPO、CAD、4-CL是木质素合成中的关键酶^[22-24], 在果实木质化进程中具有重要作用。Yang Huqing等^[8]研究发现, 外源NO处理可以延缓竹笋木质化进程, 而NO对其木质化的调控与抑制PPO和PAL活性有关。程琳琳^[3]研究表明, NO处理抑制了PAL和PPO活性的增加并且负调控PAL和PPO基因的表达, 从而减轻了果实的冷害的症状。但李鹏霞等^[9]却认为NO处理对PAL活性影响不大, NO处理主要是通过抑制CAD和PPO活性从而延缓绿芦笋木质化进程, 因此认为NO处理对PAL活性的抑制作用与其作用对象的生理特性有关。本实验发现, 贮藏过程中果实PAL活性逐渐上升, PPO在贮藏中期活性较高, 而NO处理可以显著抑制枇杷果实PAL活性及贮藏中期PPO活性的上升, 相关性分析表明, CK组及(5、15、25、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理枇杷果实PAL活性与木质素含量相关系数(r)分别为0.581**、0.667**、0.500*、0.678**、0.618**、0.676**, 而PPO活性与木质素含量的相关系数(r)分别为0.338、0.349、0.191、0.398、0.095、0.595**, 说明PAL活性与木质

素含量的相关性较高, 而PPO与木质素含量的相关性较低, 外源NO处理抑制了PAL活性, 从而减少了木质素的生成, 延缓了果实的木质化进程, 但NO对枇杷果实木质化的调控与PPO关系不大。

CAD是木质素单体合成的最后一个酶, 催化肉桂醛生成相应的醇。Shan Lanlan等^[25]在对‘洛阳青’枇杷果实研究中发现CAD基因表达水平与果肉组织木质化进程具有密切关系, 下调*EjCAD*基因的表达可以延缓果实采后成熟衰老。本研究发现, NO处理可以抑制枇杷果实CAD活性的上升, 其中以35 $\mu\text{L/L}$ NO处理对CAD活性的抑制效果最好, 经相关性分析, CK组及5、15、25、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理组枇杷果实CAD活性与木质素含量的相关系数(r)分别为0.573**、0.652**、0.434*、0.695**、0.366、0.051, 说明在一定NO水平范围内枇杷果实CAD活性与木质素含量的相关性较高, 随着NO水平继续升高, CAD活性与木质素含量相关性逐渐减弱, 可能是NO水平的升高会促进NO与细胞内的 O_2^- 作用形成过氧亚硝酸阴离子, 进而形成强氧化性的过氧亚硝酸破坏细胞结构的完整性, 诱导膜脂过氧化^[26-27], 加速果实的木质化进程。

4-CL是连接苯丙烷代谢途径与木质素合成特异途径的关键酶^[28]。实验中, NO处理抑制了冷藏枇杷果实4-CL活性, 相关性分析表明, CK组及5、15、25、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理组枇杷果实4-CL活性与木质素含量的相关系数(r)分别为0.219、0.496*、0.383、0.265、0.384、0.634**, 相关程度较低。因此认为, 4-CL可能是诱导枇杷果实木质化的一个因素, 但并不是木质化途径中的关键步骤, 这与赵艳玲等^[29]对转基因杨树的研究结果不符, 原因可能是4-CL在不同植物组织中参与木质素合成中的作用不同; 此外, 4-CL是一个多基因家族, 在不同植物组织中4-CL基因的表达特征也呈现多样性^[30]; 另外, 本试验中, NO处理对冷藏枇杷早期4-CL活性抑制显著, 而后期差异不大, 可能是由于NO处理具有时效性^[11], 随着果实贮藏时间的延长其作用也逐渐消除, 也可能是因为NO处理造成的短期应激反应^[31]。

糖是果实生长发育的物质基础, 它既是呼吸作用的底物, 又为果实各生理活动提供能量。实验期间, 冷藏枇杷果实可溶性总糖含量先升后降, 且NO处理组的降幅明显低于对照组, 相关性分析表明: CK组及5、15、25、35、45 $\mu\text{L/L}$ NO处理组枇杷果实的可溶性总糖与木质素含量呈负相关性, 相关系数(r)分别为-0.558**、-0.471*、-0.417、-0.465*、-0.453*、-0.601**, 说明NO处理可减缓可溶性总糖含量的下降, 延缓枇杷果实木质化进程, 较好地保持冷藏枇杷果实品质, 这一结论与吴锦程等^[32]用谷胱甘肽处理‘解放钟’枇杷时可溶性糖的变化一致。

综上所述, NO熏蒸处理对枇杷果实木质化的调控主要是通过抑制PAL和CAD活性的上升, 延缓可溶性总糖含量的下降, 进而延缓枇杷果实木质化进程, 其中以15 $\mu\text{L/L}$ 和25 $\mu\text{L/L}$ NO处理效果较为明显。目前有关外源NO处理对冷藏枇杷木质化的研究较少, 本实验初步探讨了NO熏蒸处理对枇杷果实木质化调控机理, 但有关NO如何通过信号转导方式调控枇杷果实木质素代谢相关酶的确切机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 何志刚, 李维新, 林晓姿, 等. 贮藏温度及气体成分对枇杷的保鲜效果[J]. 果树学报, 2004, 21(5): 438-442.
- [2] 郑永华, 苏新国, 李三玉, 等. SO_2 对冷藏枇杷果实品质及活性氧和多胺代谢的影响[J]. 植物生理学报, 2000, 26(5): 397-401.
- [3] 程琳琳. NO和 N_2O 对香蕉采后冷害及香气成分影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2012.
- [4] SINGH S P, SINGH Z, SWINNY E E. Postharvest nitric oxide fumigation delays fruit ripening and alleviates chilling injury during cold storage of Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell)[J]. Postharvest Biology and Technology, 2009, 53(3): 101-108.
- [5] ZAHARAH S S, SINGH Z. Mode of action of nitric oxide in inhibiting ethylene biosynthesis and fruit softening during ripening and cool storage of 'Kensington Pride' mango[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62(3): 258-266.
- [6] ZHAO Ruirui, SHENG Jiping, LÜ Shengnan, et al. Nitric oxide participates in the regulation of *LeCBF1* gene expression and improves cold tolerance in harvested tomato fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62(2): 121-126.
- [7] ZHU Liqin, ZHOU Jie, ZHU Shuhua. Effect of a combination of nitric oxide treatment and intermittent warming on prevention of chilling injury of 'Feicheng' peach fruit during storage[J]. Food Chemistry, 2010, 121(1): 165-170.
- [8] YANG Huqing, ZHOU Cunshan, WU Fenghua, et al. Effect of nitric oxide on browning and lignification of peeled bamboo shoots[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 57(1): 72-76.
- [9] 李鹏霞, 胡花丽, 王毓宁. 外源NO对采后绿芦笋木质化和抗氧化能力的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(9): 264-269.
- [10] XU Maojun, DONG Jufang, ZHANG Ming, et al. Cold-induced endogenous nitric oxide generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during postharvest storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 65(6): 5-12.
- [11] 朱树华, 刘孟臣, 周杰. 一氧化氮熏蒸对采后肥城桃果实细胞壁代谢的影响[J]. 中国农业科学, 2006, 39(9): 1878-1884.
- [12] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2006.
- [13] 韩雅珊. 食品化学实验指导[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992.
- [14] 叶建兵, 陈发河, 吴光斌. 一氧化氮对莲雾果实采后生理及品质的影响[J]. 集美大学学报: 自然科学版, 2012, 17(3): 180-185.
- [15] 潘秀娟, 屠康. 质构仪质地多面分析(TPA)方法对苹果采后质地变化的检测[J]. 农业工程学报, 2005, 21(3): 166-170.
- [16] MORRISON I M. A semi-micro method for the determination of lignin and its use in predicting the digestibility of forage crops[J]. Journal of the Food and Agriculture, 1972, 23(4): 455-463.
- [17] 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.
- [18] MURR D P, MORRIS L L. Influence of O_2 and CO_2 on odiphenol oxidase activity in mushrooms[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1974, 99(2): 155-158.
- [19] ZUCKER M. Sequential induction of phenylalanine ammonialyase and a lyase-inactivating system in potato tuber disks[J]. Plant Physiology, 1968, 43(3): 365-374.
- [20] GOFFNER D, JOFFROY I, GRIMA P J. Purification and characterization of isoforms of cinnamyl alcohol denhydrogenase from *Eucalyptus xylem*[J]. Planta, 1992, 188(1): 48-53.
- [21] YUN M S, CHEN Weijun, DENG Fan, et al. Differential properties of 4-coumarate: CoA ligase related to growth suppression by chalcone in maize and rice[J]. Plant Growth Regulation, 2005, 46(2): 169-176.
- [22] CAI Chong, XU Changjie, FERGUSON I, et al. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 40(2): 163-169.
- [23] 单兰兰. 枇杷果肉木质化相关 cDNA 和番茄 ARF 相关小 RNA 的功能分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- [24] DIANA L, KNUT M, CLINT C, et al. Antisense suppression of 4-coumarate: coenzyme A ligase activity in arabidopsis leads to altered lignin subunit composition[J]. The Plant Cell, 1997, 9(11): 1985-1998.
- [25] SHAN Lanlan, LI Xian, WANG Ping, et al. Characterization of cDNAs associated with lignification and their expression profiles in loquat fruit with different lignin accumulation[J]. Planta, 2008, 227(6): 1243-1254.
- [26] 王文重, 高继国. NO 在植物体内产生的途径及其作用[J]. 东北农业大学学报, 2006, 37(4): 546-551.
- [27] BOVERISA D, GALATRO A, PUNTARULO S. Effect of nitric oxide and plant antioxidants on microsomal content of lipid radicals[J]. Biological Research, 2000, 33(2): 159-165.
- [28] ALLINA S M, PRI-HADASH A, THEILMANN D A, et al. 4-Coumarate: coenzyme A ligase in hybrid poplar. Properties of native enzymes, cDNA cloning, and analysis of recombinant enzymes[J]. Plant Physiology, 1998, 116(2): 743-754.
- [29] 赵艳玲, 陆海, 蒋湘宁. *GRP1.8*融合 4CL1 基因调控杨树木质素生物合成[J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2012, 31(2): 99-102.
- [30] 石海燕, 张玉星. 木质素生物合成途径中关键酶基因的分子特征[J]. 中国农学通报, 2011, 27(5): 288-291.
- [31] 范蓓, 杨杨, 王锋, 等. 外源NO处理对采后芒果抗冷性的影响[J]. 核农学报, 2013, 27(6): 800-804.
- [32] 吴锦程, 陈伟健, 谭莉, 等. 谷胱甘肽对冷藏枇杷果实木质化相关生理指标的影响[J]. 云南农业大学学报, 2008, 23(5): 652-657.