

采前 ALA 处理对菠菜采后品质及 生理生化特性的影响

宋永令, 饶景萍, 王 婷

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】探讨采前喷施 5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevuliniaid, ALA)对采后菠菜品质及其生理生化特性的影响,为 ALA 在园艺作物生产上的应用提供科学依据。【方法】以‘日本春秋大叶菠菜’为试材,在两叶期每隔 2 周喷 1 次 ALA(0.06 g/m²),以喷清水为对照,至菠菜采收为止,期间共处理 4 次。菠菜采收后进行相关品质分析,并进行冷藏测定相关生理指标。【结果】与对照相比,ALA 处理使菠菜干重比提高了 14.3%;可溶性糖和 Vc 含量分别增加了 4.64%和 2.08%;叶绿素和可溶性蛋白含量分别提高 0.72%和 22.8%。采后冷藏期间,与对照相比,ALA 处理推迟了呼吸高峰和乙烯高峰的出现,峰值分别降低了 1.7%和 2.4%;ALA 对相对细胞膜透性和丙二醛含量的增加有一定的延缓作用;并抑制了 O₂⁻ 的累积,使超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)保持了较高的活性。【结论】ALA 在一定程度上提高了菠菜的营养品质,延缓了菠菜的衰老。

【关键词】 ALA;菠菜;蔬菜品质;活性氧代谢

【中图分类号】 S636.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)12-0167-05

Effects of ALA on quality and physiological and biochemical characteristics of post-harvest spinach

SONG Yong-ling, RAO Jing-ping, WANG Ting

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The study applied ALA on spinach to study the effects of ALA on quality, post-harvest storability and changes of reactive oxygen during cold storage in order to provide a basis for the applying on gardening crops. 【Method】The variety of spinach is Japanese spring and autumn big leave spinach. ALA(0.06 g/m²) was applied when the spinach had two leaves every two weeks with water as CK. The treatment was repeated four times before harvesting spinach. After harvesting analysis was done about quality and the relative physiological indexes during cold storage were measured. 【Result】Compared with CK, the treatment of ALA can increase the dry weight about 14.3%; the content of soluble surge and V_C increased 4.64% and 2.08% separately; the content of chlorophyll and soluble protein increased 0.72% and 22.8% separately. During cold storage, ALA treatment decreased the respiration and ETH production rates, the peak decreased about 1.7% and 2.4%. It slowed down the increase in the relative membrane and permeability and MDA content, inhibited the O₂⁻ accumulation, maintained a higher level of the activities of SOD, CAT, POD, APX during storage. 【Conclusion】ALA treatment increased the quality of spinach and postponed the spinach senescence.

* [收稿日期] 2007-12-07

[基金项目] 中日合作项目“5-氨基乙酰丙酸在园艺作物上的应用”

[作者简介] 宋永令(1981—),女,河南周口人,在读硕士,主要从事园艺产品采后贮藏研究。E-mail: yongling80@126.com

[通讯作者] 饶景萍(1957—),女,陕西城固人,教授,博士生导师,主要从事园艺产品采后贮藏研究。E-mail: dqr0723 @163.com

Key words: ALA; spinach; quality of vegetable; metabolism of active oxygen

菠菜(*Spinacea oleracea*)是藜科的一、二年生蔬菜,深受人们青睐,但同时也存在着品质降低的问题。近年来,随着化学肥料的大量施用,土壤盐碱化,土壤水中离子浓度上升,导致蔬菜品质不佳,不符合绿色食品要求,除硝酸盐含量高、对人体健康不利、味道欠佳之外,耐贮性也较差。菠菜作为绿叶蔬菜,采后极易失水萎蔫,叶片皱缩早衰,影响食用品质和商品价值。目前,对叶菜类衰老的研究已有不少报道,但多侧重于激素对衰老的调控,如激动素降低苋菜核酮糖二磷酸羧化酶(RuBPC)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)活性,乙烯导致结球白菜贮藏期脱帮黄衰等^[1]。

5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, ALA)是所有生物体内卟啉化合物包括叶绿素、亚铁血红素、钴胺素、光敏素等生物合成的第一个关键前体^[2],可以促进植物生长、提高产量^[3]、增强抗逆性^[4]、改善果品品质^[5],并对盐胁迫有一定的缓解作用^[6],被认为是一种新的具有多种生理功能的内源生长调节物质^[7]。研究表明,0.06~0.12 g/m² ALA处理,可显著提高植株干鲜重、叶面积、根系活力和叶片可溶性糖含量;显著降低叶片丙二醛(MDA)含量和电解质渗出率,增强甜瓜幼苗对盐胁迫逆境的抵抗能力,减轻和缓解盐伤害^[8];提高叶片净光合速率,促进叶片同化产物向根系分配^[9];提高弱光下甜瓜幼苗的净光合速率,并增强植株抗冷性^[10]。在萝卜上,ALA能明显促进植株中下部叶片光合作用,降低叶绿素荧光产额,诱导光抑制保护,提高光化学猝灭系数(qP)和非光化学猝灭系数(NPQ)^[2]。也有人提出,ALA提高菠菜光合速率与其促进抗氧化酶活性有关^[11]。鉴于ALA的诸多作用,本试验以菠菜为材料,探索采前ALA处理对采后菠菜品质及其生理生化影响,以期为ALA在园艺作物生产上的应用及发展优质耐贮性叶类蔬菜提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菠菜品种为‘日本春秋大叶菠菜’,ALA试剂由日本COSMO公司提供。

1.2 方法

1.2.1 试验处理 采前试验在西北农林科技大学园艺场进行,采用砂培,常规管理。处理设3次重

复,共3个小区,每小区面积为10 m²。菠菜生长到两叶期时开始进行叶面喷施(0.06 g/m²),以喷施清水为对照(CK),每隔2周喷1次,至菠菜采收为止,期间共处理4次。当菠菜达到商品成熟时采收,每小区随机选取大小、成熟度基本一致的健康菠菜,当天运回西北农林科技大学采后实验室。将采回的菠菜分成两部分:一部分进行品质分析,即把每小区随即采收的菠菜剪碎,充分混均后分成3份进行测定,取其平均值为一个小区的结果;另一部分预冷后,用保鲜袋包装,但不扎口,于温度(0±0.5)℃、相对湿度为85%~95%的机械冷库中贮藏,每小区所采收的菠菜为一重复,每重复为10 kg左右。贮藏期间每隔2 d取样1次测定相关生理指标。

1.2.2 测定指标及其方法 可溶性蛋白含量用考马斯亮兰法测定^[12];可溶性糖含量用恩酮比色法测定^[13];V_C含量用钼蓝比色法测定^[12];叶绿素含量用丙酮直接浸提法测定^[12];干重比用称重法测定;呼吸速率用ETONG-7001型CO₂分析仪测定,菠菜从冷库中取出后放置于干燥器中,严密封闭,放置30 min,用CO₂分析仪测定容器中CO₂浓度变化,计算呼吸速率;乙烯释放量采用岛津GC-14A型气象色谱仪测定;GDX-502色谱柱,柱温60℃,氢气0.7 kg/cm²,空气0.7 kg/cm²,氮气1.0 kg/cm²,氢火焰离子化检测器检测,检测室温度110℃;相对细胞膜透性采用DDX-11AT型电导仪测定;丙二醛(MDA)含量用硫代巴比妥酸比色法测定^[12];超氧阴离子(O₂⁻)含量参考孙群等^[14]的方法测定。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性参照陈建勋等^[15]的方法测定;抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性参考刘凤权等^[16]的方法测定。以上测定均重复3次,取其平均值。

相关指标的计算公式:干重比/%=(新鲜样品质量-干燥样品质量)/新鲜样品质量×100%。

2 结果与分析

2.1 采前ALA处理对菠菜品质的影响

采前ALA处理对菠菜品质的影响如表1所示。表1表明,与对照相比,采前喷施ALA增加了菠菜的干重比,使干重比提高了14.3%,差异达显著水平;ALA处理还增加了菠菜的叶绿素、V_C、可溶性蛋白和可溶性糖含量,其中叶绿素和可溶性蛋白含量与对照差异达显著水平。可溶性糖和V_C含

量均高于对照, 分别比对照增加了 4.64% 和 2.08%, 但差异不显著。由此可见, 采前 ALA 处理

可以提高菠菜的营养品质和外观品质。

表 1 采前 ALA 处理对菠菜品质的影响

Table 1 Effect of Pre-harvest treatment of ALA on quality of spinach

处理 Treatment	干重比/% Dry matter content	叶绿素含量/ (mg · g ⁻¹) Chlorophyll	Vc 含量/ (mg · g ⁻¹) Vitamin C	可溶性蛋白质/ (mg · g ⁻¹) Soluble protein	可溶性糖/ (g · kg ⁻¹) Soluble surge
CK	0.07 b	3.46 b	17.65 a	20.66 b	35.7 a
ALA	0.08 a	3.73 a	18.03 a	26.76 a	37.4 a

注: 按 Duncan 多重极差分析, 同列数据后标不同字母者差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The data followed by different letters represent significant difference at 0.05 level.

2.2 采前 ALA 处理对冷藏期间菠菜生理的影响

如图 1 所示, 对照和 ALA 处理的菠菜, 在冷藏期间呼吸强度变化趋势相似, 初期快速下降, 3 d 后变化速度趋于平缓; 对照在采后 11 d 出现呼吸高峰, ALA 处理推迟 4 d 出现, 且峰值低于对照。

乙烯作为一种植物内源激素, 具有促进成熟、衰老的作用。由图 2 可知, 菠菜在冷藏过程中有乙烯高峰出现, 对照冷藏后 9 d 出现高峰, ALA 处理则推迟 2 d 出现, 且峰值低于对照; 冷藏后期, 对照和 ALA 处理菠菜乙烯释放量有上升趋势。

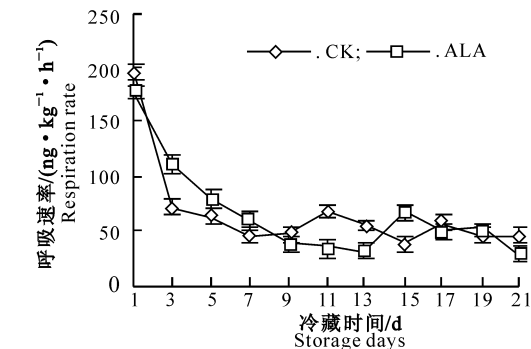


图 1 采前 ALA 处理对冷藏期间菠菜呼吸速率的影响

Fig.1 Effect of ALA on respiration rates of spinaches during cold storage

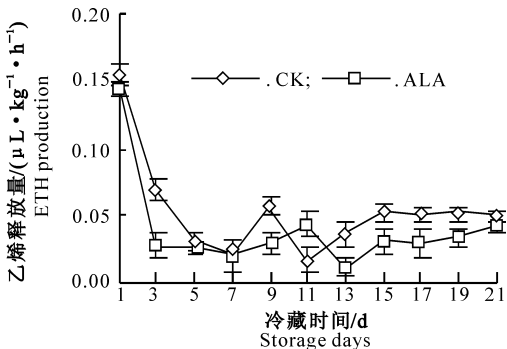


图 2 采前 ALA 处理对冷藏期间菠菜乙烯释放量的影响

Fig.2 Effect of ALA on the releaed ethylene amounts of spinaches during cold storage

采前 ALA 处理对冷藏期间菠菜相对细胞膜透

性和 MDA 含量的影响如图 3 和图 4 所示。

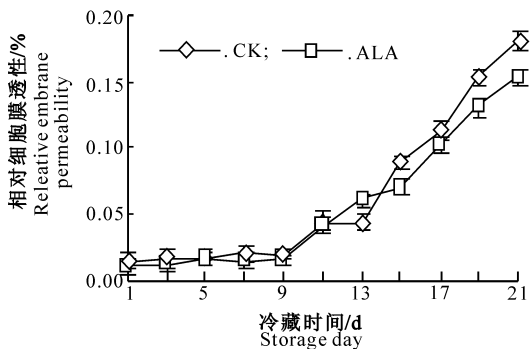


图 3 采前 ALA 处理对冷藏期间菠菜相对细胞膜透性的影响

Fig.3 Effect of ALA on relative embrane permeability in spinaches during cold storage

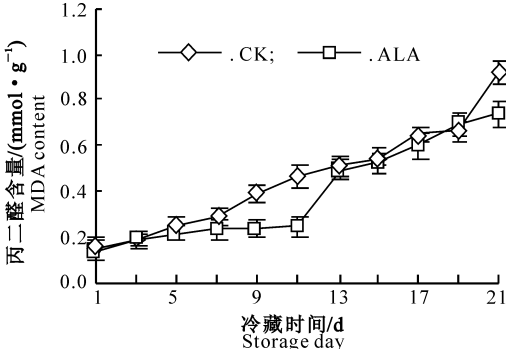


图 4 采前 ALA 处理对冷藏期间菠菜 MDA 含量的影响

Fig.4 Effect of ALA on MDA content in spinaches during cold storage

图 3 显示, 随着菠菜的成熟衰老, 其相对细胞膜透性不断增加, 在冷藏的前 11 d, ALA 处理和对照菠菜的相对细胞膜透性增长幅度基本一致, 均比较缓慢; 冷藏至 9 d 后, 相对细胞膜透性上升速度加

快, 且对照的增长幅度明显高于处理; 至冷藏 21 d 时, 对照的相对细胞膜透性较 ALA 处理增加了 18.67%。说明 ALA 处理有保护细胞膜结构稳定性的作用。

丙二醛(MDA)是膜脂氧化的最终分解产物,其积累会对膜和细胞造成一定的伤害。如图4所示,ALA处理的菠菜MDA含量变化趋势与细胞膜透性的基本一致,在冷藏前期,ALA处理的菠菜MDA含量变化缓慢,冷藏11 d后急剧增加;而对照的MDA含量在整个冷藏期间均保持较快的上升速度。到冷藏末期,对照的MDA含量比ALA处理高0.18 mmol/g,说明ALA处理延缓了菠菜中MDA含量的增加。

2.3 ALA处理对冷藏期间菠菜活性氧代谢的影响

2.3.1 O_2^- 含量的变化 如图5所示,在采后冷藏过程中,对照和ALA处理的菠菜 O_2^- 含量均呈上升趋势,两者均于冷藏后9 d出现峰值(7.01和5.84 $\mu\text{g/g}$),ALA处理较对照低16.65%;对照在冷藏后13 d出现次峰值,ALA处理比对照迟2 d出现;之后,两者 O_2^- 含量均急剧上升,而且在整个冷藏过程中,ALA处理始终低于对照。这说明ALA处理可以降低菠菜衰老过程中 O_2^- 的产生。

2.3.2 SOD、CAT、POD和APX活性的变化 由

图6可见,ALA处理与对照菠菜的SOD活性有相似的变化趋势,冷藏前期随着 O_2^- 的累积,SOD活性急剧升高,两者在冷藏3 d时,SOD活性达到最大值,分别为449.10和438.77 U/g,ALA处理比对照高2.3%,且其SOD活性在冷藏1~17 d(除11 d外)显著高于对照($P<0.05$)。冷藏3 d以后,ALA处理和对照菠菜的SOD活性均逐渐降低,并随着 O_2^- 含量的波动而出现2次小峰。

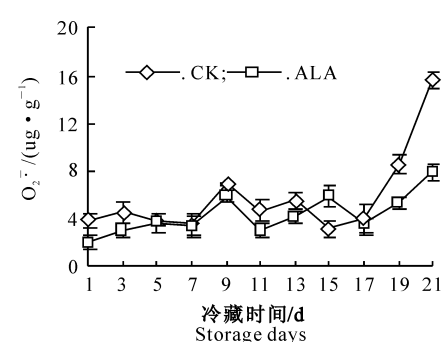


图5 采前ALA处理对冷藏期间菠菜 O_2^- 含量的影响
Fig.5 Effect of ALA treatment on O_2^- content of spinach

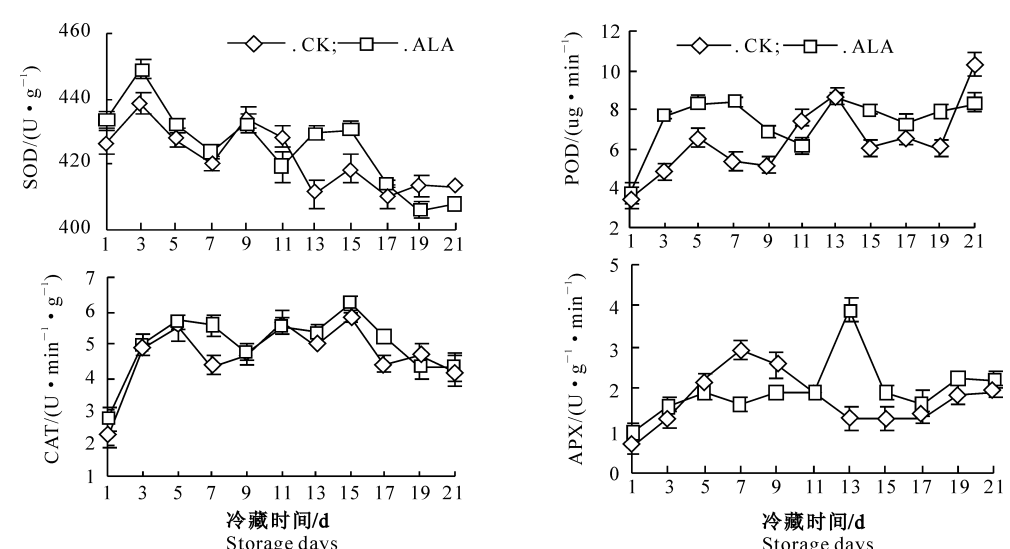


图6 采前ALA处理对冷藏期间菠菜SOD、POD、APX和CAT活性的影响
Fig.6 Effect of ALA treatment on POD、SOD、APX、CAT activity of spinach during cold storage

由图6还可知,采后菠菜的POD活性迅速上升,ALA处理和对照均在冷藏5 d同时出现第1次高峰,比 O_2^- 含量第1次达到高峰提前4 d,峰值分别为8.36和6.59 $\mu\text{g/min}$,ALA处理比对照高35.45%。第1次活性高峰过后,对照POD活性急剧下降,而ALA处理下降较缓慢,并且其POD活性在冷藏1~9 d时极显著高于对照($P<0.01$)。在冷藏13 d时,两者同时出现了第2次POD活性高峰。

图6还显示,ALA处理的菠菜CAT活性,在冷藏前期和中期始终高于对照,在冷藏15 d时出现最大值,之后开始下降;对照虽在贮藏15 d时也达最高值,但低于ALA处理。

ALA处理和对照的菠菜APX活性,在贮藏过程中表现出上升一下降一上升的趋势,对照在冷藏7 d时达最大值,ALA处理在冷藏13 d时达最大值,比对照推后6 d,且峰值比对照高42.0%(图6)。

3 讨 论

有试验表明,ALA 具有调节叶绿素合成的作用,并可增加叶绿素 b 与 a 含量的比值(Chl. b/a)^[3,10]。本研究发现,采前 ALA 处理显著增加了菠菜的叶绿素和可溶性蛋白质含量。ALA 是叶绿素生物合成的关键前体^[17],故外源 ALA 处理会促进植物叶绿素合成。蛋白质降解是叶片衰老的基本特征,随着植物叶片的衰老,蛋白质合成和分解的平衡系统被打破,表现为蛋白质降解,且降解的蛋白主要是可溶蛋白^[1]。而 Chl. b/a 值的提高,有利于叶绿素与 LHC II 脱辅基蛋白结合,可以避开水解酶的影响而起到稳定蛋白结构的作用^[3]。本试验还表明,ALA 处理提高了菠菜的干重比和可溶性糖含量,这与康琅等^[18]在大棚西瓜叶片上的研究结果相似。这可能是由于 ALA 处理提高了菠菜叶片的光合速率,从而增加了菠菜干物质的积累。

Nishihara 等^[11]提出,ALA 处理可促进菠菜幼苗几种抗氧化酶活性的增加;刘卫琴等^[19]用 SOD 活性抑制剂二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC),确认了外源 ALA 的生理效应与其促进抗氧化酶活性上升及消除超氧阴离子的关系;孙永平等^[20]以遮荫下西瓜幼苗为材料,研究了 ALA 对叶绿素荧光参数的影响,证明了 ALA 对 PS II 光化学反应的促进效应与细胞抗氧化酶活性有关。本试验结果显示,ALA 处理可以通过提高 SOD、CAT、POD 和 APX 等保护酶的活性,降低 O_2^- 的积累,从而减缓 MDA 的大量产生及膜透性的升高。结合 ALA 处理对冷藏中菠菜呼吸速率和乙烯释放量的影响,本研究认为,在冷藏初期菠菜内积累的活性氧水平较低,随着菠菜的衰老,乙烯大量产生,呼吸速率升高,从而产生了大量活性氧,而活性氧的产生又反过来促进了乙烯的合成。

[参考文献]

- [1] 朱东兴,曹峰丽,郁 达,等.叶菜采后生理与贮藏保鲜研究及应用[J].保鲜与加工,2006(1):3-6.
Zhu D X, Cao F L, Yu D, et al. The research and application of postharvest physiology and storage and refreshing of leaf vegetables [J]. Refreshing and processing, 2006(1): 3-6.
- [2] 汪良驹,刘卫琴,孙国荣,等. ALA 对萝卜不同叶位叶片光合作用与叶绿素荧光特性的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(3): 488-496.
Wang L J, Liu W Q, Sun G R, et al. Effects of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of radish

- seedlings [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2005, 25(3): 488-496. (in Chinese)
- [3] Hotta Y, Tanaka T, Takaoka H, et al. New physiological effects of 5-aminolevulinic acid in plants: The increase of photosynthesis, chlorophyll content, and plant growth [J]. Biosci Biotech Biochem, 1997, 61: 20252-028.
- [4] Hotta Y, Tanaka T, Bingshan L, et al. Improvement of cold resistance in rice seedlings by 5-aminolevulinic acid [J]. J Pest Sci, 1998, 23: 293-3.
- [5] 汪良驹,王中华,李志强,等. 5-氨基乙酰丙酸促进苹果果实着色的效应 [J]. 果树学报, 2004, 21(6): 512-516.
Wang L J, Wang Z H, Li Z J, et al. Effect of 5-aminolevulinic acid on enhancing apple fruit coloration [J]. Journal of Fruit Science, 2004, 21(6): 512-516. (in Chinese)
- [6] Watanabe K, Tanaka T, Hotta Y, et al. Improving salt tolerance of cotton seedlings with 5-aminolevulinic acid [J]. Plant Growth Regul, 2000, 32: 99-103.
- [7] Bindu R C, Vivekanandan M. Hormonal activities of 5-aminolevulinic acid in callus induction and micropropagation [J]. Plant Growth Regul, 1998, 26: 15-18.
- [8] 周贺芳,邹志荣,孟长军,等. 外源 ALA、CaCl 和水杨酸对盐胁迫下甜瓜幼苗一些生理特性的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(4): 36-40.
Zhou H F, Zou Z R, Meng C J, et al. The effect of exogenous ALA, CaCl and SA on physiological characteristics of muskmelon seedling under salt stress [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2007, 25(4): 36-40. (in Chinese)
- [9] 汪良驹,石 伟,刘 晖,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸处理对小白菜叶片的光合作用效应 [J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(2): 34-38.
Wang L J, Shi W, Liu H, et al. Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid treatment on leaf photosynthesis of pak-choi [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2004, 27(2): 34-38. (in Chinese)
- [10] 汪良驹,姜卫兵,黄保健,等. 5-氨基乙酰丙酸对弱光下甜瓜幼苗光合作用和抗冷性的促进效应 [J]. 园艺学报, 2004, 31(3): 321-326.
Wang L J, Jiang W B, Huang B J, et al. Promotion of photosynthesis by 5-aminolevulinic acid (ALA) during and after chilling stress in melon seedlings grown under low light condition [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2004, 31(3): 321-326. (in Chinese)
- [11] Nishihara E, Kondo K, Parvez M M, et al. Role of 5-aminolevulinic acid (ALA) on active oxygen-scavenging system in NaCl-treated spinach [J]. Plant Physiol, 2003, 160: 1085-1091. (in Chinese)
- [12] 高俊凤. 植物生理学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 101.
Gao J F. Experimental technology of plant physiology [M]. Xi'an: World Book Publishers Ltd, 2000: 101. (in Chinese)