

采后乙醇处理对萝卜幼苗延迟衰老作用的影响

刘 玲 吴 萍

细田 浩

(国家蔬菜系统工程技术研究中心, 北京 100081) (日本农林水产省综合食品研究所 305)

摘 要 去根小萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 幼苗, 放置在 0.5L 的塑料盒中, 用 0.05~ 1.0m l 不同量的乙醇处理不同的时间, 4d 后测定叶绿素损失量、氧的消耗量、二氧化碳产生量。结果发现, 经乙醇气处理后的样品组, 叶绿素损失均比对照组明显减少, 二氧化碳生成量和氧的消耗量也比对照组显著降低, 说明呼吸作用减缓并受到了抑制, 延迟了衰老作用的发生。

关键词 萝卜 幼苗 乙醇 叶绿素 衰老

衰老是生物机体在生命过程中不可避免的, 是一个光合速率逐渐减缓、叶绿素丧失, 其 a/b 比值下降、乙烯生成量上升等导致死亡一系列变化的过程。在叶片尤其突出的是叶绿素降解速度, 大大超过其合成速度^[1]。如能很好地认识这一过程发生的生理机制, 就能有效地预防和延缓这一过程的发生。

近年来, 很多文献报道, 采后乙醇处理可以诱导日本柿 (*Diospyros kaki* L.) 脱涩^[2], 增加乌饭树的紫黑浆果、梨等果实的品质, 如糖含量和糖酸比^[3]的变化等。也有文献报道, 采后乙醇处理还能够抑制蔬菜、果实及某些植物组织的成熟^[4-6], 抑制离体燕麦叶片的衰老^[7], 并能有效地延迟乙烯高峰期和呼吸高峰期的出现及叶绿素的丧失, 延迟衰老等。但目前对于采后乙醇处理对叶菜类的影响研究的人还不多。本试验根据叶绿素含量的变化是衰老的重要指标之一, 着重研究采后乙醇气处理萝卜苗后, 叶绿素含量变化与衰老的关系。

1 材料和方法

1.1 植物材料

去根幼苗 (S): 日本超级市场出售的食用小萝卜幼苗 (*Raphanus sativus* L.)。精选生长期相同、外观一致健康的, 混合后用不锈钢刀切去根部, 保留幼苗上部分, 长度为 5.5cm。洗净, 自然风吹干幼苗表面的水分, 称重, 每份实验材料 5.0g, 3~ 5 份为一组。

1.2 乙醇处理

将植物材料放入 50ml 小烧杯中, 置于 0.5L 的锥形带盖塑料培养盒 (盒底直径 7.5cm ×

盒高 11.5cm), 培养盒底放入等重量的脱脂棉和三层 Whatman No. 1 滤纸, 加水 20ml 以保证湿度。再放入 30ml 小烧杯, 杯中放入 20mm 直径大 Whatman No. 1 滤纸, 通过盒盖中心胶塞取样孔, 用微量注射器把不同量的乙醇 (详见表 1) 滴加到滤纸上, 样品经乙醇气处理时间为 3、6、24、96h, 处理后的样品, 转入到另外一个 0.5L 的培养盒中 (盒中除不加乙醇外, 其他条件均与上相同), 放在 20℃ 暗式恒温生长箱中。以不加乙醇为对照, 其它条件相同。

1.3 叶绿素含量的测定

测试材料只取幼苗叶片, 每株只取其中的一片, 按照 Wirtzman 和 Demott 的方法, 用 Hitachi 2000-2UV Vis 分光光度计在 665nm 和 649nm 波长分别测定其吸光值, 计算叶绿素的含量: 叶绿素总量 (mg/L) = $20.0A_{649nm} + 6.1A_{665nm}$; 叶绿素 a (mg/L) = $13.7A_{665nm} - 5.76A_{649nm}$; 叶绿素 b (mg/L) = $25.8A_{649nm} - 7.6A_{665nm}$ 。

1.3 呼吸量的测定

实验材料经 1ml 9% 的乙醇, 处理 6h 后, 放在 20℃ 暗式恒温生长箱中, 培养盒侧面底部 1、2、3、5、20、25、50、118h 取气, GC-3AH (Shimadzu) TCD 系统, 测定 O₂ 消耗量和 CO₂ 生成量的变化。

2 结果与讨论

表 1 为乙醇量 0.05、0.75、1.0ml 处理 0、3、6、24、96h, 4d 后测得叶绿素 a、b 的含量。表中结果可见, 处理后样品叶绿素 a、b 的保持量均好于对照组。在同一处理时间不同乙醇处理量时, 均为高浓度的醇量处理, 叶绿素的保持量依次好于低浓度的醇量处理。在全部处理条件中, 尤其以乙醇 0.75ml 处理 24h, 20℃ 暗恒温生长箱保存 4d 后的效果最好。

从图 1 看, 叶绿素 a/b 的比值同样可以看出, 不同量乙醇 3、6h 处理组, 叶绿素的降解速度较其他组降解速度慢。

从总叶绿素含量的变化看, 如果以样品初始态的总叶绿素含量为 100%, 3、6、24、96h 乙醇气处理后, 放在 20℃ 恒温暗生长箱中, 4d 后, 测得对照组总叶绿素的含量, 仅为初始态的 40%, 损失了近 60%, 损失量极严重; 而处理组总叶绿素的损失量, 最多的为 0.75ml 3h 处理, 只有 37%; 最少的为 0.5ml 处理 6h 和 0.75ml 处理 24h, 仅损失了 19% (图 2)。可见乙醇处理量为 0.75ml 以下, 处理时间在 24h

以内时, 叶绿素的损失量均比对照组少, 如果长时间保存样品, 尤其以 0.75ml 处理时间不超过 24h 或者 1ml 处理 3 到 6h 最佳, 而超过此量或处理时间时, 尽管叶绿素的含量及叶绿素的保持都很好, 但已明显出现叶片软化和轻度脱水, 严重的甚至出现微生物感染现象。

表 1 叶绿素 a、b 含量及叶绿素 a/b 值

EtOH 处理 时间 (h)	EtOH 量 (ml)	叶绿素 a (mg/g)	叶绿素 b (mg/g)
初始态	0	14.14	5.03
对照组	0	5.89	2.77
3h	0.75	9.18	3.12
	1.00	9.45	3.08
	0.75	9.35	3.10
6h	1.00	10.87	3.84
	0.50	9.45	3.10
	0.75	11.51	4.06
24h	1.00	16.83	7.12
	0.50	11.73	4.02
	0.75	15.67	5.95
	1.00	17.88	6.81
96h	0.50	11.73	4.02
	0.75	15.67	5.95
	1.00	17.88	6.81

采后蔬菜品质下降的主要原因,是受蔬菜呼吸作用等因素的影响,呼吸作用越强, O_2 消耗量和 CO_2 生成量越快,品质下降也越快^[8]。伴随呼吸现象的发生,体内成分分解、过热、软化、风味改变及营养成分减少,环境 CO_2 生成量上升,品质迅速降低

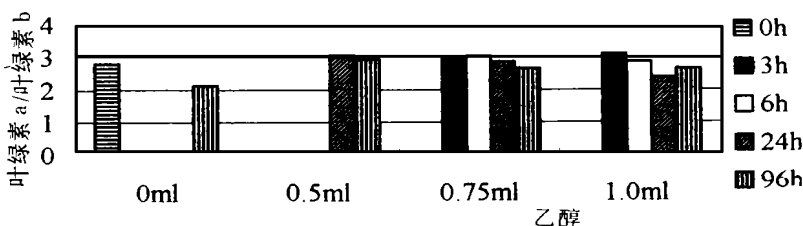


图 1 对照组与乙醇处理组 4天后测定叶绿素 a/b 比值图

实验用 1m 199 9% 的乙醇处理 6h 后,放在 $20^{\circ}C$ 恒温暗生长箱中 5d,样品及对照组各为 5 份,计算结果取平均值。不同时间取气,测定 O_2 消耗量和 CO_2 生成量,以时间对峰面积的对数作图。结果表明:用乙醇处理过样品的 O_2 消耗量和 CO_2 生成量均低于对照组,且减少的量随着处理时间的延长而增加,成正相关性(图 3),说明用乙醇处理过样品的呼吸明显受到抑制

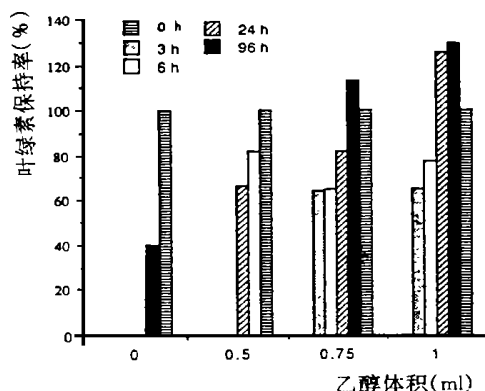


图 2 不同乙醇量处理不同时间, 4d 后总叶绿体含量的保持率

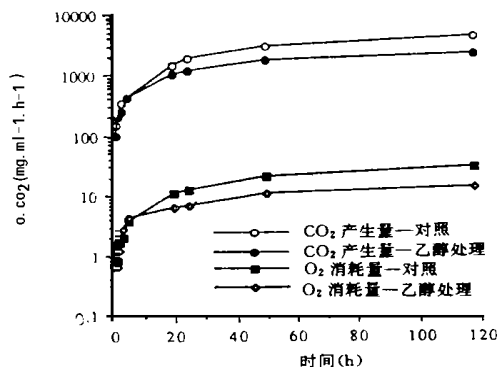


图 3 暗呼吸氧消耗量和二氧化碳产生量的对数图

从外观上看,对照组与处理组也有明显的差异,对照组幼苗叶片全部变黄,且部分叶片边缘组织损伤和腐烂,而处理组几乎全部为绿色,只有极少部分叶片变为黄绿色,叶片边缘组织均完好无损

从上述结果看,乙醇可以明显起到抑制暗呼吸的作用,并且能够很好保持并减少叶绿素的损失,这与已有的报道是相吻合的^[4, 5, 9-12]。

乙醇抑制成熟可能是通过以下两个机理来完成的:直接影响乙烯的活动和非特异性的毒害作用。影响乙烯的活动是通过抑制 ACC 合成酶而不是酶活性,延迟或者阻止乙烯高峰期出现,从而达到抑制乙烯合成并延迟老化^[5, 12]。在低浓度情况下,它通过引起细胞膜的变化,增加膜的通透性和改变结合蛋白的性质,但变性的速度是缓慢的,其结果同样起到了增加抑制的效果^[9]。

乙醇抑制乙烯,延迟老化活动,对于贮藏环境因素的控制和采后处理等,都具有非常重要的生理作用和应用价值,可应用于采后减缓成熟,延长果实贮藏,货架期寿命,增加经济效益。

参 考 文 献

- 1 刘道宏, 徐竹生. 叶绿素和蛋白质含量的变化是衡量叶片衰老的重要生理指标. 华中农业大学学报, 1986 1: 33
- 2 Ito S. The persimmon. The biochemistry of fruits and their products, 1971, 2: 281
- 3 Paz O, Janes HW, et al. Enhancement of fruit sensory quality by post-harvest applications of acetaldehyde and ethanol. J Food Sci, 1981, 47: 270
- 4 Saltveit ME Jr, Mencarelli F. Inhibition of ethylene synthesis and action in ripening tomato fruit by ethanol vapors. J Amer Soc Hort Sci, 1988, 113(4): 572
- 5 Heins RD. Influence of ethanol on ethylene biosynthesis and flower senescence of cut carnation by ethanol. J Amer Soc Hort Sci, 1980, 105(1): 141
- 6 Burt WG. Suppression of the sprouting of potatoes by the vapor of alcohols. Nature, 1956, 178: 218
- 7 Satler SO, Thimann KV. The influence of aliphatic alcohols on leaf senescence. Plant Physiol, 1980, 66: 395
- 8 大久保増太郎. 蔬菜の鮮度保持. 东京: 东京株式会社养贤堂, 1988, 25- 188
- 9 Saltveit ME Jr. Effect of alcohols and their interaction with ethylene on the ripening of epidermal pericarp discs of tomato fruit. Plant Physiol, 1989, 90: 167
- 10 Chang LA, Hammitt LK, Pharr DM. Carbon dioxide effects on ethanol production, pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase activities in anaerobic sweet potato roots. Plant Physiol, 1983, 71: 59
- 11 Chin JH, Goldstein SB. Effect of low concentrations of ethanol on the fluidity of spin-labelled erythrocyte and brain membranes. Mol Pharmacol, 1977, 13: 435
- 12 Saltveit ME Jr, Ballinger WE. Effects of anaerobic nitrogen and carbon dioxide atmospheres on ethanol production and postharvest. J Amer Soc Hort Sci, 1983, 108: 459

Effect of Post-Harvest Ethanol Treatment on Retarding Senescence of Seedling in *Raphanus sativus* L.

Liu Ling Wu Ping

Hosota

(Beijing Vegetable Research Center, Beijing 100081) (National Food Research Institute, Tsukuba, Japan 305)

Abstract Detached *Raphanus sativus* L. seedlings were exposed to 0.05 ml to 1.0 ml vaporized ethanol in a 0.5 L plastic jar for different times. Loss of chlorophyll, oxygen consumption and carbon dioxide production were measured 4 days after ethanol treatment. Loss of chlorophyll was apparently lower than control, so were the formation of carbon dioxide and oxygen consumption, indicating that respiration reduced and delayed the senescent process.

Key words *Raphanus sativus* L.; Seedlings; Ethanol treatment; Chlorophyll; Senescence