

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2019.10.003

不同抗性诱导剂对金针菇抗氧化酶系统的影响^①

曾小峰, 曾志红, 曾顺德, 刁源,
尹旭敏, 商桑, 段文韬, 高伦江

重庆市农业科学院农产品贮藏加工研究所, 重庆 401329

摘要: 以金针菇为原料, 研究壳聚糖、水杨酸、苯并噻重氮、茉莉酸甲酯 4 种抗性诱导剂对采后金针菇抗氧化酶系统的影响。结果表明: 4 种抗性诱导剂处理金针菇后, 金针菇贮藏期间过氧化氢酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性在不同时期高于对照组, 提高了金针菇清除活性氧自由基的能力, 维持了机体活性氧代谢的平衡。同时, 实验得出壳聚糖、水杨酸、苯并噻重氮、茉莉酸甲酯的最佳处理浓度分别为 0.75 g/L, 0.5 mmol/L, 0.75 mmol/L, 100 μ mol/L, 为金针菇的贮藏保鲜提供了数据参考。

关键词: 金针菇; 抗性诱导剂; 抗氧化酶

中图分类号: Q814; TS205.9

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2019)10-0022-06

金针菇在我国种植历史悠久, 是最早进行人工栽培的食用菌之一, 其含有丰富的蛋白质、维生素及矿物质等营养元素, 同时富含 8 种人体必需的氨基酸, 占总氨基酸量的 42.29%~51.17%, 其中每 100 g 干制金针菇中精氨酸和赖氨酸含量分别为 1.231 g 和 1.024 g^[1], 比其他品种食用菌中的含量都高出许多, 对调整人体新陈代谢、改善体质、提高健康水平有明显作用^[2]。另外, 金针菇所含有的多糖类^[3-4]、黄酮类^[5]以及碱性蛋白质火菇素^[6]等生物活性物质具有抗氧化、抗肿瘤、提高机体免疫功能等作用。因此, 金针菇具有符合现代社会人类对食物营养、健康、有机、绿色的发展要求, 深受消费者喜爱, 具有巨大的发展潜力。

金针菇主要以鲜销为主, 采后金针菇呼吸代谢旺盛, 不耐贮藏, 室温下 1~2 d 发生萎蔫、褐变、腐烂, 严重影响其食用价值^[7], 故新鲜金针菇的保鲜是产业全面发展的重要前提。目前金针菇的保鲜技术主要集中在不同包装材料简易包装^[8]、气调保鲜^[9]、化学保鲜^[10]、热处理保鲜^[11]等方面, 而关于现阶段国内外学者研究热点的抗性诱导剂应用至金针菇保鲜方面的研究则少有报道。采后抗病性诱导是指利用抗病性诱导因子预先处理果蔬, 使其对贮藏或运输过程中可能侵染果蔬的致病菌产生抗性免疫反应, 这是一种通过激发果蔬自身抗病性而有效抵御或杀死病原菌的防治方法^[12], 而这种抗性诱导是植物天然的抗病防御机制的表达, 加强了植株抵御病原菌侵染的能力, 是植物自身基因的表达, 而不是基因突变或者是外来基因的整合, 因此抗性诱导具有高度的生物安全性。目前研究中经常使用的有植物生长调节物质如茉莉酸及其甲酯化合物和水杨酸, 有氨基酸衍生物类 β -氨基丁酸, 有的来自生物体如矮壮素, 也有多糖类物质壳聚糖, 还有苯并噻重氮和 2, 6-二氯异烟酸这两种人工合成的抗性诱导剂, 这些诱导剂具有诱导植物抗病基因产生抗病性的能力, 可以为果蔬鲜品保鲜提供一条新途径, 且相关研究已表明现阶段常用的抗性剂在哈密

① 收稿日期: 2018-09-17

基金项目: 重庆市社会民生科技创新专项(cstc2015shmszx80001); 重庆市科技支撑示范工程项目(cstc2014fazktjcsf80017); 重庆市应用开发计划重点项目(cstc2014yykfB80003)。

作者简介: 曾小峰(1989-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事果蔬贮藏加工的研究。

通信作者: 高伦江, 硕士, 副研究员。

瓜、芒果、鸭梨、柑橘、马铃薯、番茄^[13-14]等水果蔬菜的研究中具有显著的保鲜效果。

果蔬贮藏过程中,抗氧化酶系统的活性是评价其采后贮藏品质的重要指标。POD,SOD 和 CAT 是活性氧防御系统中的主要酶系统^[15],POD 酶是一种可避免生物体细胞受到 H₂O₂ 伤害、在植物抗病防御系统中能发挥有效作用的氧化还原酶^[16],CAT 酶是生物体内新陈代谢活动中主要的抗氧化酶之一,具有清除体内 H₂O₂,防止活性氧对脂类物质的破坏以及对蛋白质分子的聚合交联作用^[17]。SOD 酶可以催化超氧化物阴离子自由基的歧化反应,具有清除 O²⁻ 的能力,它的存在可以保护细胞的膜结构,使植物的抗逆性、抗病性加强,对逆境胁迫的忍受度增加^[18]。因此,本文将壳聚糖、水杨酸、苯并噻重氮、茉莉酸甲酯 4 种抗性诱导剂应用于金针菇的保鲜研究中,分别探究其对金针菇抗氧化酶系统中的 POD,CAT,SOD 酶的影响,通过其酶活性的高低判断金针菇贮藏性和保鲜效果,确定其较佳的使用浓度,以期金针菇的贮藏保鲜提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

供试金针菇:采自重庆大足正宽食用菌专业种植社,早上 7 点采取新鲜、无病害的金针菇放入 4 ℃ 的冷库预冷 4 h。

过氧化物酶试剂盒、过氧化氢酶试剂盒、超氧化物歧化酶试剂盒、水杨酸、水溶性壳聚糖、苯并噻重氮、茉莉酸甲酯等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

EX324ZH 型电子分析天平,上海上天精密仪器有限公司;GL-12A 型高速冷冻离心机,上海菲恰尔分析仪器有限公司;754E 型紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;HH-4 型电子恒温水浴锅,常州国华电器有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 材料处理

配制浓度梯度为 0.5,1.0,1.5,2.0 mmol/L 的水杨酸溶液,0.25,0.5,0.75,1.0 g/L 壳聚糖溶液,0.25,0.5,0.75,1.0 mmol/L 苯并噻重氮溶液,1,10,100,1 000 μmol/L 茉莉酸甲酯溶液,分别对预冷 4 h 的金针菇采用 10 mL 化妆用喷雾瓶进行喷雾处理,按照每 50 g 金针菇 1 mL 溶液进行均匀喷雾,处理后将金针菇快速晾干,用果蔬防潮纸包装,贮藏在冰箱中,温度设置为 2 ℃,每 2 d 测定酶活 1 次。

1.3.2 指标测定

粗酶液提取:参考组织质量(g)与提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例,取 50 g 金针菇切碎混匀,再准确称取 0.1~0.2 g 金针菇,移取 1~2 mL 提取液与金针菇混合进行冰浴匀浆,8 000 r/min,4 ℃ 离心 10 min,收集上清液保存在冰箱中备用。

参照 POD 试剂盒、CAT 试剂盒、SOD 试剂盒说明书进行测定。

1.3.3 数据分析

数据处理使用 Microsoft Excel 2010;采用 SPSS 22.0 做统计分析并进行数据显著性差异分析($p < 0.05$ 为有统计学意义);采用 Origin Pro 9.1 进行图像处理;所有实验均做 3 次重复测定。

2 结果与分析

2.1 壳聚糖诱导剂对金针菇抗氧化酶活性的影响

一定浓度的壳聚糖溶液处理均可以提高金针菇的 POD,CAT,SOD 酶活性。图 1 中显示,在贮藏前 5 d,对照组与处理组 POD 酶活性都急剧下降后又急速上升,可能在贮藏前 3 d,壳聚糖溶液处理还未激发金针菇体内应激反应,导致 POD 酶下降,急速上升表明体内产生了应激反应,0.75 g/L 壳聚糖浓度处理组上升速率最快且在整个后期贮藏中,其 POD 酶活性均高于对照组(CK)和其他处理组。图 2 中,壳聚糖处理组在第 3 d 后 CAT 酶活急速上升,其中,1 g/L 壳聚糖处理组酶活上升速率最快且在第 5 d 时达到峰值,7~11 d 贮藏期间,

除 1 g/L 壳聚糖处理组酶活基本保持稳定外, 其他所有处理组酶活急剧下降. 图 3 中, 处理组与对照组在贮藏前 5 d, SOD 酶活性呈现先升后降的趋势, 对照组持续下降到第 9 d 后再上升, 上升的可能原因是贮藏 9 d 后金针菇出现了开伞、组织软化的现象, 其自身促使各种酶类升高来达到抗病防御效果. 处理组则是逐渐上升(1 g/L 处理组除外), 酶活均高于对照组, 差异有统计学意义($p < 0.05$), 其中, 0.75 g/L 壳聚糖浓度处理组 SOD 酶活性一直处于较高水平, 优于其他处理组.

综上所述, 0.75 g/L 壳聚糖浓度处理金针菇, 其 POD 和 SOD 酶活性在整个贮藏期均保持较高水平, 有利于金针菇的采后贮藏; 而 1 g/L 壳聚糖处理 CAT 酶活性较高, 效果最佳. 因此, 综合壳聚糖对 3 种酶活性的共同作用, 选择 0.75 g/L 壳聚糖处理作为最佳浓度.

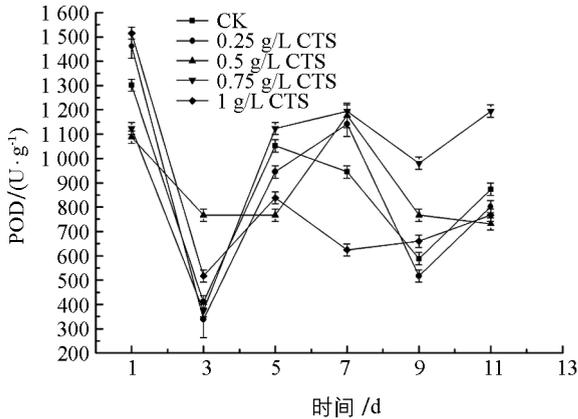


图 1 壳聚糖(CTS)对金针菇 POD 酶活性的影响

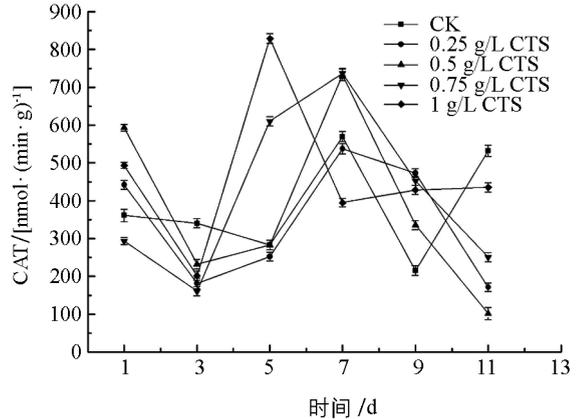


图 2 壳聚糖(CTS)对金针菇 CAT 酶活性的影响

2.2 水杨酸诱导剂对金针菇抗氧化酶活性的影响

图 4 中, 所有处理组 POD 酶活性先升高后逐渐下降, 酶活性整体高于对照组(CK), 其中, 0.5 mmol/L 水杨酸处理组在整个贮藏期保持着较高的 POD 酶活性. 图 5 中, 0.5 mmol/L 水杨酸处理组在 1~7 d 贮藏期间, CAT 酶活逐渐上升, 第 7 d 达到酶活峰值, 高于其他处理组和对照组, 第 9 d 降低至最低水平, 但其活性仍高出对照组 61.43%, 两者之间差异有统计学意义($p < 0.05$), 在贮藏第 9~11 d 时, 除 1.5 mmol/L 处理组外, 其他水杨酸处理组 CAT 酶活性均高于对照组. 图 6 中可以看出, 水杨酸处理后, 贮藏中后期酶活不断升高, 作用效果明显, 7 d 后所有处理组 SOD 酶活性均高于对照组, 而 0.5 mmol/L 水杨酸处理组在贮藏前期, 酶活虽略低于对照组, 但 5 d 后酶活均高于对照组, 且差异有统计学意义($p < 0.05$), 同时, 与其他处理组比较, 0.5 mmol/L 水杨酸处理能够使 SOD 酶活性在整个贮藏期更趋于稳定.

因此, 综上所述, 0.5 mmol/L 水杨酸处理可以较大程度提高 POD, CAT, SOD 酶活性, 减缓金针菇贮藏后期的衰老, 有利于延长贮藏期.

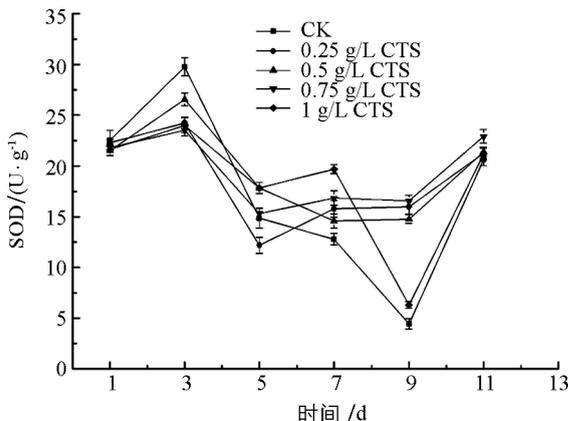


图 3 壳聚糖(CTS)对金针菇抗 SOD 酶活性的影响

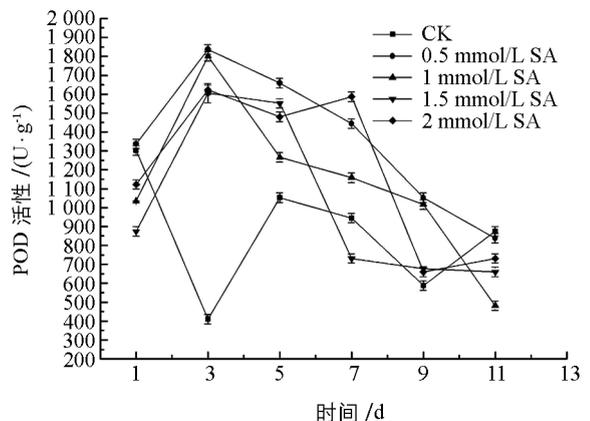


图 4 水杨酸(SA)对金针菇 POD 酶活性的影响

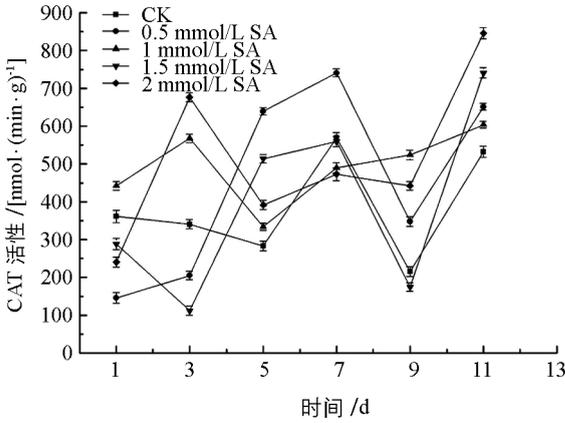


图 5 水杨酸(SA)对金针菇 CAT 酶活性的影响

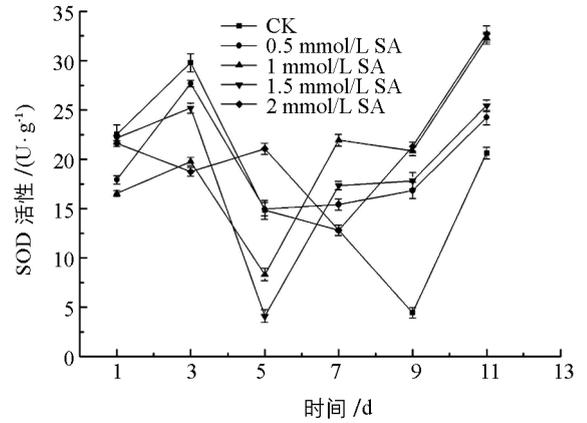


图 6 水杨酸(SA)对金针菇 SOD 酶活性的影响

2.3 苯并噻重氮诱导剂对金针菇抗氧化酶活性的影响

图 7 中, 处理组与对照组的 POD 酶活性基本保持一致的变化趋势, 在贮藏第 3~9 d, 所有处理组 POD 酶活性均高于对照组, 且差异有统计学意义 ($p < 0.05$), 在贮藏后期 9~11 d, 仅有 0.75 mmol/L 处理组的 POD 酶活性高于对照组, 优于其他处理组. 图 8 中, 在整个贮藏期, 0.25 mmol/L 和 0.75 mmol/L 苯并噻重氮处理组的 CAT 酶活大部分时间段都高于其他处理组和对照组, 且两组处理对金针菇 CAT 酶活提高作用相当. 这与董柏余^[19]用苯并噻重氮处理厚甜瓜抑制了 CAT 酶活性不同, 可能是由于本次实验的金针菇无论是对照组还是处理组都没有发生褐斑病害的原因, 导致对照组与处理组的 CAT 酶活性变化趋势基本一致, 且表现为处理组的酶活性高于对照组. 图 9 中, 两组低浓度的苯并噻重氮处理组变化趋势与对照组变化一致, SOD 酶活性在第 3 d 上升到波峰后持续下降到第 9 d 的波谷, 且在整个贮藏过程, 两组低浓度处理组的酶活一直高于对照组, 且 0.5 mmol/L 优于 0.25 mmol/L 浓度, 差异有统计学意义 ($p < 0.05$).

因此, 综上所述, 0.75 mmol/L 苯并噻重氮处理可使 POD 酶活性保持较高水平; 0.25 mmol/L 和 0.75 mmol/L 使 CAT 酶活性提高具有相当效果, 0.5 mmol/L 可使 SOD 酶保持高水平. 因此, 结合 3 种酶同时作用效果, 选择 0.75 mmol/L 苯并噻重氮处理组作为最佳浓度.

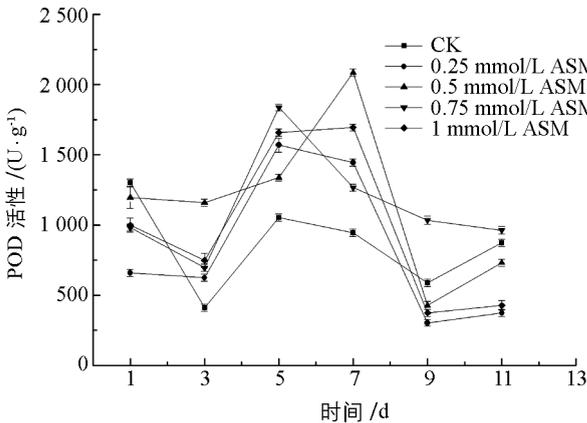


图 7 苯并噻重氮(ASM)对金针菇 POD 酶活性的影响

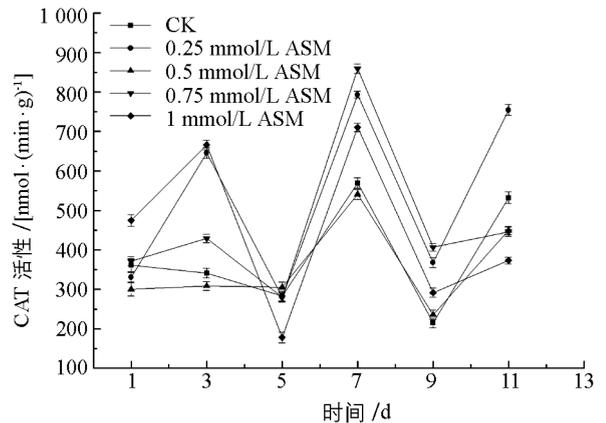


图 8 苯并噻重氮(ASM)对金针菇 CAT 酶活性的影响

2.4 茉莉酸甲酯诱导剂对金针菇抗氧化酶活性的影响

图 10 中, 在 1~7 d 贮藏期间, 所有的茉莉酸甲酯处理组 POD 酶活性均高于对照组(CK), 且差异有统计学意义 ($p < 0.05$), 在第 3, 7 d 时, 100 $\mu\text{mol/L}$ 处理组 POD 酶活达到最大值, 分别为对照组的 7.04, 1.92 倍. 实验发现, 茉莉酸甲酯处理组的 POD 酶活性最大值接近 3 000 μg , 远高于其他 3 种抗性诱导材料, 说明茉莉酸甲酯提高金针菇 POD 酶活性的效力高于其他 3 种抗性诱导材料, 且相关研究表明 POD 酶与植物抗病性具有正相关关系^[20]. 图 11 可以看出, 100 $\mu\text{mol/L}$ 茉莉酸甲酯处理组在整个贮藏期间 CAT 酶活性保持较高水平, 且在贮藏前 8 d, 该处理组 CAT 酶活均高于对照组及其他处理组. 图 12 中, 茉莉酸甲酯处理后, 效果主要体现在贮藏中后期, 1 $\mu\text{mol/L}$ 与 100 $\mu\text{mol/L}$ 处理组 SOD 酶活性从第 5 d 开始均高

于对照组, 差异有统计学意义($p < 0.05$), 100 $\mu\text{mol/L}$ 处理组优于 1 $\mu\text{mol/L}$ 处理组, 在贮藏 9~11 d, 所有处理组 SOD 酶活性均高于对照组, 差异有统计学意义($p < 0.05$), 且 100 $\mu\text{mol/L}$ 处理组 SOD 酶活性急速上升至最大值, 高于其他处理组和对照组。

综上所述, 茉莉酸甲酯处理金针菇可使 POD, CAT, SOD 酶活性维持在一个较高水平, 尤其对提高 POD 酶活具有较好效果, 且选择 100 $\mu\text{mol/L}$ 茉莉酸甲酯处理作为最佳浓度。

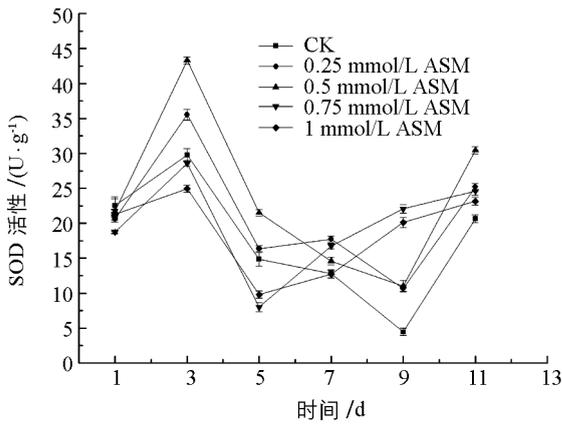


图 9 苯并噻重氮(ASM)对金针菇 SOD 酶活性的影响

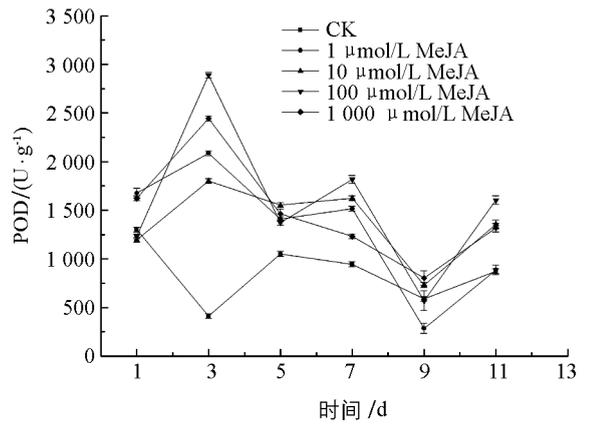


图 10 茉莉酸甲酯(MeJA)对金针菇 POD 酶活性的影响

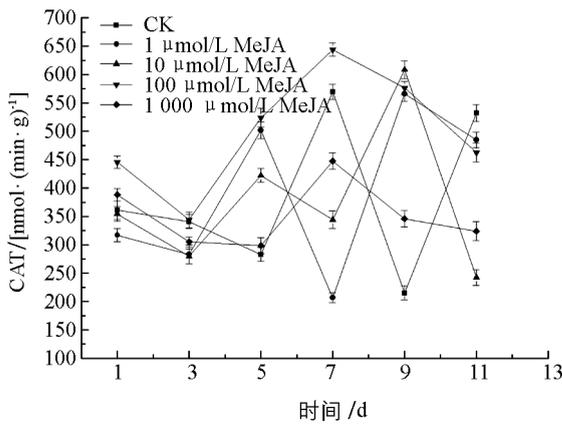


图 11 茉莉酸甲酯(MeJA)对金针菇 CAT 酶活性的影响

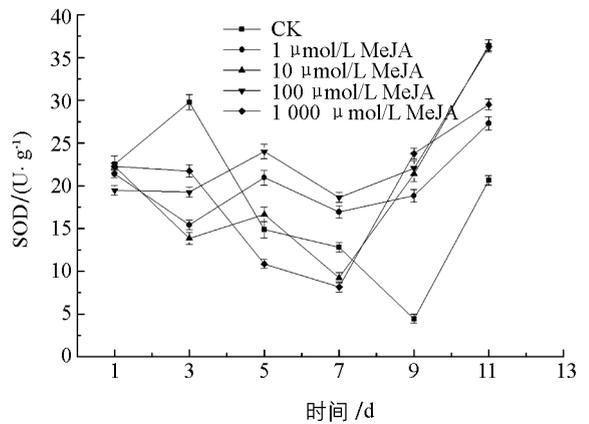


图 12 茉莉酸甲酯(MeJA)对金针菇 SOD 酶活性的影响

3 结 论

抗性诱导剂通过激发金针菇自身防御系统, 提高其活性氧代谢系统活性, 增强了对采后病害的抵抗能力, 较好地维持了采后金针菇的品质。通过这 4 种抗性诱导剂处理后的金针菇, 其 POD, CAT, SOD 酶在不同时期均有所增加, 表明了金针菇自身产生了抗性反应, 在一定程度上减缓了衰老、保持了其品质, 同时实验得出了壳聚糖、水杨酸、苯并噻重氮、茉莉酸甲酯的最佳处理浓度分别为 0.75 g/L, 0.5 mmol/L, 0.75 mmol/L, 100 $\mu\text{mol/L}$ 。

参考文献:

- [1] 侯波, 郑淑彦, 邵丽梅, 等. 金针菇营养保健功能及食品加工研究现状 [J]. 食品研究与开发, 2013, 34(12): 122-126.
- [2] CHOI M H, KIM G H. Quality Changes in Pleurotus Ostreatus during Modified Atmosphere Storage as Affected by Temperatures and Packaging Material [J]. Acta Horticulturae, 2003(628): 357-362.
- [3] ZHANG A Q, XIAO N N, DENG Y L, et al. Purification and Structural Investigation of a Water-Soluble Polysaccharide from Flammulina Velutipes [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(3): 2279-2283.
- [4] XIA Z Q. Preparation of the Oligosaccharides Derived from Flammulina Velutipes and Their Antioxidant Activities [J].

Carbohydrate Polymers, 2015, 118: 41-43.

- [5] 杨文建, 俞杰, 裴斐, 等. 金针菇黄酮的制备、纯化及对 PC12 神经细胞的保护作用 [J]. 中国食品学报, 2017, 17(3): 46-56.
- [6] ZHOU K S, PENG F, CHANG N, et al. Purification and Crystallization of Flammulin, a Basic Protein with Anti-Tumor Activities from *Flammulina Velutipes* [J]. Chinese Chemical Letters, 2003, 14(7): 713-716.
- [7] 边晓琳, 张艳芬, 冯莉, 等. 自发气调对采后金针菇生理生化的影响 [J]. 食品科学, 2010, 31(6): 283-287.
- [8] 杨福馨, 张炯炯, 张伊芸, 等. 不同包装材料对常温下金针菇的保鲜效果 [J]. 绿色包装, 2016(2): 47-51, 81.
- [9] 王成涛, 王昌涛, 刘柳, 等. 不同氧分压对金针菇贮藏保鲜效果的影响 [J]. 食品科学, 2010, 31(18): 385-389.
- [10] 卢赛红, 王春晖, 彭运祥, 等. L-半胱氨酸和氯化钙在金针菇保鲜上的应用 [J]. 中国食用菌, 2010, 29(5): 52-54.
- [11] KO W C, LIU W C, TSANG Y T, et al. Kinetics of Winter Mushrooms (*Flammulina Velutipes*) Microstructure and Quality Changes during Thermal Processing [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 81(3): 587-598.
- [12] 刘红霞. 1-MCP, BTH 和 PHC 对桃果 (*Prunus persica* L.) 采后衰老的调控作用及诱导抗病机理的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- [13] 马雨熙, 宁晓强, 张玉, 等. 壳聚糖协同次氯酸盐对采后北碚 447 锦橙质构及生理的影响 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2018, 40(8): 32-38.
- [14] 王大平. 水杨酸对番茄贮藏品质的影响 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(2): 77-80.
- [15] 刘洪竹, 赵习姮, 陈双颖, 等. 热激处理对鲜切甜椒活性氧代谢及贮藏品质的影响 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(1): 310-314.
- [16] TAKAHAMA U, ONIKI T. A Peroxidase/phenolics/ascorbate System can Scavenge Hydrogen Peroxide in Plant Cells [J]. Physiologia Plantarum, 1997, 101(4): 845-852.
- [17] 韩冬梅, 吴振先, 季作梁, 等. SO₂ 对龙眼果实的氧化作用与衰老的影响 [J]. 果树科学, 1999, 16(1): 24-29.
- [18] 李成忠, 孙燕, 杜庆平. 黄连木根系抗氧化酶系对于旱胁迫的响应 [J]. 林业科技开发, 2008, 22(2): 57-60.
- [19] 董柏余. 采后 ASM 处理调控厚皮甜瓜果实活性氧代谢及抗性相关酶的分子和生化机理 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2015.
- [20] JOSEPH L M, KOON T T, MAN W S. Antifungal Effects of Hydrogen Peroxide and Peroxidase on Spore Germination and Mycelial Growth of *Pseudocercospora* Species [J]. Canadian Journal of Botany, 1998, 76(12): 2119-2124.

Effects of Different Resistance Inducers on the Antioxidant Enzyme System in *Flammulina velutipes*

ZENG Xiao-feng, ZENG Zhi-hong, ZENG Shun-de, DIAO Yuan,
YIN Xu-min, SHANG Sang, DUAN Wen-tao, GAO Lun-jiang

Agro-product Storage and Processing Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China

Abstract: In order to provide data reference for the storage and preservation of Enoki mushroom (*Flammulina velutipes*), an experiment was made in which harvested *F. velutipes* was treated with chitosan, salicylic acid, benzothiazole and methyl jasmonate to investigate the effects of the four resistance inducers on the antioxidant enzyme system in *F. velutipes*. The results indicated that all the four resistance inducers enhanced the activity of POD, CAT and SOD in *F. velutipes* over the control group, thus improving the ability of the mushroom to remove reactive oxygen free radicals and maintaining the balance of active oxygen metabolism. The optimal treatment concentration of chitosan, salicylic acid, benzothiazide and methyl jasmonate was 0.75 g/L, 0.5 mmol/L, 0.75 mmol/L and 100 μmol/L, respectively.

Key words: *Flammulina velutipes*; resistance inducer; antioxidant enzyme