

NO 和 N₂O 与采后园艺作物的保鲜

宋丽丽^{1,2} 段学武^{1,2} 苏新国^{1,2} 蒋跃明^{1,*}

¹ 中国科学院华南植物园, 广州 510650; ² 中国科学院研究生院, 北京 100039

Nitric Oxide and Nitrous Oxide and Fresh-keeping of Harvested Horticultural Products

SONG Li-Li^{1,2}, DUAN Xue-Wu^{1,2}, SU Xin-Guo^{1,2}, JIANG Yue-Ming^{1,*}

¹South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650; ²Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039

摘要 合适浓度的NO和N₂O可明显延长果蔬和花卉园艺产品的采后货架期,并改善品质,减少水分消耗。NO和N₂O的作用机制可能是抑制乙烯的生理效应。该文就这些方面的研究进展作一介绍。

关键词 NO; N₂O; 园艺作物; 采后寿命; 乙烯抑制剂

NO和N₂O普遍存在于大气中,是空气污染的主要成分。其中,NO是形成酸雨的主要因子,而N₂O对全球变暖具有一定的作用。自20世纪80年代末以后,人们发现NO和N₂O参与调控动物的多种生理过程,是人体许多重要生物作用的媒介^[1]。不过,NO和N₂O在植物体内作用的研究起步较晚,至1996年以后才开始。现有资料表明,NO和N₂O对植物组织的生长、发育、胁迫响应等生理过程都有作用^[2~4]。1996年,Leshem和Haramaty^[5]首次报道NO可在植物中合成,并可能作为一种植物生长调节剂调控植物的成熟和衰老。目前,已有较多的证据表明:NO和N₂O通过延缓植物组织衰老进程、抑制乙烯的合成和作用,从而提高果蔬贮藏过程中抵御逆境的能力,延长货架寿命,并改善果蔬采后贮藏品质^[6]。关于NO与植物成熟衰老的关系已有专门评述^[7]。本文重点对NO和N₂O在采后园艺作物的保鲜作用作一简述。

1 NO和N₂O与园艺作物的成熟和衰老

Leshem等^[8]用NO的新型独特探针DAF-2DA(4,5-diaminofluorescein diacetate)检测园艺作物内部NO浓度时,发现在成熟和衰老的果蔬和切花(如鳄梨、香蕉、猕猴桃、柿子、柑橘、樱桃、番茄以及山茶花等)组织中,其浓度较未成熟的低得多。

用一定浓度的外源NO熏蒸草莓、花椰菜、黄瓜、甘蓝和猕猴桃,其成熟和衰老明显受到抑制,果实货架寿命延长^[8]。用80% N₂O+20% O₂连续处理,可以抑制不同时期番茄和鳄梨的成熟和衰老,推迟果实呼吸跃变出现的时间^[9]。施用NO释放剂可抑制白色和粉红色系的“Sim”香石竹切花由ACC所引起花瓣内卷、褐变和枯萎等衰老症状发生^[8]。我们的工作也表明,用10和50 μL·L⁻¹ NO熏蒸“淮枝”荔枝果实和铺地蜈蚣(*Lycopodium cernuum* L.)切叶6 h后,其货架寿命明显延长(待发表资料)。不过,NO和N₂O延长果蔬货架寿命的效应随着它们的处理浓度不同而出现较大差异。例如,用5 μL·L⁻¹ NO处理2 h的草莓,货架寿命延长60%,外观品质也明显改善;而以4 000 μL·L⁻¹ NO熏蒸处理的草莓,花萼周围很快变黑,外观损伤严重^[10]。NO对植物的不同影响与其内源浓度有关,即低浓度促进植物生长,抵御胁迫和衰老;而高浓度则抑制生长,加速衰老。NO促进生长可能是松弛细胞壁而促进细胞扩展,并且与膜的磷脂双

收稿 2004-03-30 修定 2004-08-31

* 通讯作者(E-mail: ymjiang@scib.ac.cn, Tel: 020-37252525)。

分子层作用, 增强膜的流动性, 促进生长。但内源 NO 浓度更高时, 就与超氧阴离子作用生成过氧亚硝酸盐, 过氧亚硝酸盐再进一步降解产生毒性更强的 NO₂ 自由基 ($\cdot\text{NO}_2$), 引起膜脂过氧化作用, 导致膜渗漏, 甚至还可能扩散进入胞质, 攻击其中的关键酶类, 从而产生破坏性影响^[11, 12]。任小林等^[7]认为, NO 之所以能延缓组织成熟和衰老, 可能是其调节乙烯的生物合成和植物体内内源环化核苷酸水平以及这两种途径参与植物组织成熟和衰老进程所致。

2 NO 和 N₂O 与采后园艺作物的乙烯合成和作用

乙烯在果蔬后熟、切花衰老过程中有调控作用^[13, 14]。NO 和 N₂O 能抑制许多园艺产品, 如番茄、鳄梨、猕猴桃和香石竹等的乙烯合成和作用^[15, 16]。Gouble 等^[9]用 80% N₂O+20% O₂ 连续处理绿熟期的番茄后, 番茄中乙烯释放率高峰出现延迟 8 d, 并且乙烯释放率的峰值较未做处理的下降 40%; 而以 80% N₂O+20% O₂ 连续处理的鳄梨, 其乙烯释放率的上升明显受抑, 但乙烯释放率的峰值没有改变。N₂O 对番茄乙烯合成的抑制不仅限于绿熟期, 对淡红期和深红期的果实也有较好的抑制效应^[9]。另外, 目前商业上常用乙烯促使果蔬一致成熟。据 Gouble 等^[9]报道, 以 20 μL·L⁻¹ 乙烯处理后再连续用 N₂O 处理 48 h, 番茄果实乙烯生成速率即受抑, 果实成熟和衰老延缓。N₂O 还能抑制番茄和鳄梨果实中乙烯的二次上升^[9]。Hou 等^[17]用 10 mg·L⁻¹ 的 NO 固体释放剂 DETANO [2, 2'-(羟亚硝肼)-二乙咪, 2, 2'-(hydroxynitrosohydrazino)-bisethanamine] 处理跃变型和非跃变型切花香石竹和扶郎花时发现, 在香石竹中, DETANO 和硫代硫酸银 (STS) 的作用相似; 而在扶郎花中, DETANO 的处理效果比 STS 处理的要好(待发表资料)。这些结果说明对于非乙烯敏感型的园艺作物来说, NO 可能不仅局限于有抵抗乙烯的作用。

1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 是乙烯合成的直接前体, 而 ACC 氧化酶 (ACO) 和 ACC 合成酶 (ACS) 是乙烯合成中的两个限速酶。NO 和 N₂O 抑制乙烯的合成可能与降低 ACC 的含量以及抑制 ACO 和 ACS 的活性(如调节 ACO 的辅助因子抗坏血酸和 Fe²⁺ 的活性)有关^[18]。如用 N₂O 处理番茄和鳄梨后,

两者的 ACC 含量和 ACO 以及 ACS 的活性均明显下降^[9]。Ku 等^[19]认为, NO 和 N₂O 抑制乙烯的作用与 1-甲基环丙稀 (1-MCP) 的机制相似, 即 NO 和 N₂O 与乙烯受体的金属离子结合, 抑制乙烯-受体复合物的形成, 阻断乙烯所诱导的信号能传导, 从而抑制乙烯的效应^[20]。

3 NO 和 N₂O 与采后园艺产品的呼吸作用

园艺产品在采后过程中通常表现出较强的呼吸作用。NO 能结合线粒体上呼吸酶的金属离子, 从而使其失去活性^[21]。另外, NO 也能抑制线粒体呼吸链上复合体 I 和复合体 II 以及细胞色素 C 氧化酶的活性, 与氧可逆性竞争而抑制呼吸链, 以致线粒体产能过程受阻, 从而抑制呼吸作用^[22]。Zottini 等^[23]以 NO 释放剂硝普钠 (SNP) 处理胡萝卜悬浮细胞后发现, 24 h 内 SNP 引起细胞总呼吸速率下降 50%。他们进一步的研究表明: 细胞总呼吸的下降主要源于细胞色素途径部分; 而交替途径在 SNP 处理后不仅没有下降, 反而升高, 同时交替氧化酶的基因表达加强。Latis^[24]也报道 NO 可抑制大豆子叶线粒体的细胞色素途径, 但对交替途径没有影响。此外, Sowa 等^[25]认为, 外施 N₂O 显著抑制荔枝和龙眼种子线粒体的呼吸作用, 延长种子的贮藏活力。

4 NO 和 N₂O 与果蔬采后的色泽变化

园艺作物在采后过程中色泽常有变化, 其主要表现为叶绿素降解, 有色色素如茄红素和花色素苷等合成或出现^[26, 27]。NO 和 N₂O 能抑制果蔬叶绿素的降解^[6]。例如, 花椰菜以 NO 熏蒸处理 5 h 后, 贮藏于 20℃ 下, 其绿色和硬度能明显保持^[8]; N₂O 连续处理也显著抑制绿熟期的番茄果实色泽转变, 但抑制淡红期果实色泽转变的效应不明显^[9]。在柚子、甜橙以及猕猴桃果实中, NO 处理也能较长时间内维持果实绿色^[6]。

5 NO 和 N₂O 与果蔬采后的病害

采后病害是引起果蔬腐烂损耗主要因素之一。虽然用化学杀菌剂能较好地控制果蔬采后病害的发生, 延长货架寿命, 但其安全性问题越来越受到人们的质疑。段学武等^[28]的研究表明, 经过 40% 和 60% N₂O 连续处理的巴西香蕉果实在贮藏 75 d 后, 果实由冠腐病导致的腐烂率分别降为 29.1%

和6%; 而未经处理的果实腐烂率高达92.6%。这显示 N_2O 对香蕉冠腐病有明显的防治作用。 N_2O 的这种效应可能与它对病原物有直接抑制作用有关,也可能是非直接地增加寄主的抗病能力之果^[7]。此外, NO 熏蒸处理对防治草莓果实的腐烂也有明显的效果^[10]。

Hausladen和Stamler^[29]研究还表明,植物在遭到微生物侵染后 NO 释放增加,病程相关蛋白合成上升,组织抵御逆境的能力提高。在过敏性坏死反应中, NO 能诱导粗糙链孢菌(*Neurospora crassa*)在马铃薯切片表面产生植保素,抵御病菌侵染^[30]。这表明,果蔬采后的病菌感染过程类似于植物的逆境胁迫,而 NO 可能是起这种抗胁迫作用的。

6 NO 和 N_2O 与采后园艺产品的失水

园艺产品衰老过程中常伴随着失水率的上升,以致园艺产品损耗增加。有资料表明, NO 和 N_2O 能减轻水分损耗^[16]。Ku等^[31]以不同浓度 NO 处理16种果蔬和切花2 h后,置于20℃和60%相对湿度的条件下贮藏,24 h后观察到:各处理的失水率比贮于 N_2 或空气中的明显下降;16种经 NO 处理的产品平均失水率为 $0.38\text{ g}\cdot(100\text{ g})^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$,比空气中的 $0.47\text{ g}\cdot(100\text{ g})^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$ 下降约20%。他们认为, N_2O 处理的果蔬和切花失水率的减少可能与它能抑制呼吸作用、减少营养物质损耗有关。

7 结束语

一些乙烯抑制剂如硫代硫酸银^[32]、2,5-冰片二烯^[33]、氨基乙氧基甘氨酸^[34]、氨基氧乙酸^[35]和重氮环戊二烯^[36]等虽能较好地抑制乙烯作用,延长果蔬及花卉产品的货架期,但这些抑制剂同时也有负面影响(例如对人体的毒害作用和对环境潜在污染等),从而限制了它们在生产中应用。现有资料表明, NO 和 N_2O 可有效抑制植物组织中乙烯生成及其效应,延长采后园艺作物的保鲜期,改善品质,且对果蔬产品无残留毒性。但 NO 非常活跃,在空气中易氧化为 NO_2 ,因此施用必须在无氧环境中进行^[37]。Soegiarto等^[38]检测各种 O_2 浓度中 NO 的半衰期后发现,低浓度 NO 与 O_2 反应速率较慢,即使是在空气中, NO 半衰期也可达3.5 h,而且植物组织在空气中对 NO 有较高的吸收力。 NO 的这些特性为其在生产中大规模应

用提供了可能性。另外, NO 和 N_2O 虽然在果蔬和花卉产品保鲜中的作用类似,但 NO 比 N_2O 的使用浓度低,时间短,因此有更好的应用前景^[6]。现在,随着 NO 和 N_2O 研究的不断深入,人们对 NO 和 N_2O 抑制乙烯和延缓植物组织衰老的作用机制可望得到进一步了解,从而为易衰老、腐烂的果蔬和花卉产品的保鲜提供更有效的途径。

参考文献

- 1 Stamler JS. Redox signalling: nitrosylation and related targets interactions of nitric oxide. *Cell*, 1994, 78: 931~936
- 2 Leshem YY. Nitric oxide in biological systems. *Plant Growth Regul*, 1996, 18: 155~159
- 3 Laxalt AM, Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide preserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. *Eur J Plant Pathol*, 1997, 73: 643~651
- 4 Delledone M, Xia Y, Dixon RA. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 1998, 394: 585~588
- 5 Leshem YY, Haramaty E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage. *J Plant Physiol*, 1996, 148: 258~263
- 6 Leshem YY, Wills RBH. Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. *Biol Plant*, 1998, 41(1): 1~10
- 7 任小林, 张少颖, 于建娜. 一氧化氮与植物成熟衰老的关系. *西北植物学报*, 2004, 24(1): 167~171
- 8 Leshem YY, Wills RBH, Ku VV. Evidence for the function of the free radical gas-nitric oxide (NO)-as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36(11): 825~833
- 9 Gouble B, Fath D, Soudain P. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. *Postharvest Biol Technol*, 1995, 5: 311~321
- 10 Wills RBH, Ku VV, Leshem YY. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries. *Postharvest Biol Technol*, 2000, 18: 75~79
- 11 Madison DV. Pass the nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 4329~4331
- 12 Rafael R, Joseph SB, Kenneth MB et al. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys*, 1991, 288(2): 48~487

- 13 Lelievre JM, Latche A, Jones B et al. Ethylene and fruit ripening. *Physiol Plant*, 1997, 101: 727~739
- 14 Woltering EJ, Van Doorn WG. Role of ethylene in senescence of petals—morphological and taxonomical relationships. *J Exp Bot*, 1988, 39: 1605~1616
- 15 Sfakiotakis E, Antunes MD, Stavroulakis G et al. Ethylene biosynthesis and its regulation in ripening “ayward” kiwifruit. In: Kanellis AK, Chang C, Kende H et al (eds). *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene*. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad Publ, 1997. 47~56
- 16 Wills RBH, Bowyer MC, Leshem YY. Use of nitric oxide to extend the postharvest life of horticultural produce. International Conference Postharvest Unlimited. *Acta Horti*, 2003, 599: 519~521
- 17 Hou YC, Janczuk A, Wang PG. Current trends in the development of nitric oxide donors. *Curr Pharm Design*, 1999, 5: 417~461
- 18 Leshem YY, Wills RBH, Ku VVV. Applications of nitric oxide (NO) for postharvest control. *Acta Horti*, 2001, 553: 571~575
- 19 Ku VVV, Wills RBH, Yehoshua BS. 1-Methylcyclopropene can differentially affect the postharvest life of strawberries exposed to ethylene. *HortiSci*, 1999, 34: 119~120
- 20 Oeller PW, Wong LM, Tayler LP et al. Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase. *Science*, 1991, 254: 437~439
- 21 Brown GC. Regulation of mitochondrial respiration by nitric oxide inhibition of cytochrome C oxidase. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1504: 46~57
- 22 Millar AH, Day DA. Nitric oxide inhibits the cytochrome oxidase but not the alternative oxidase of plant mitochondria. *FEBS Lett*, 1996, 398: 155~158
- 23 Zottini M, Formentin E, Scattolin M et al. Nitric oxide affects plant mitochondrial functionality *in vivo*. *FEBS Lett*, 2002, 515: 75~78
- 24 Latis GG. The cyanide-resistant, alternative path in higher plant respiration. *Ann Rev Plant Physiol*, 1982, 33: 519~555
- 25 Sowa S, Roos EE, Zee F. Anesthetic storage of recalcitrant seed: nitrous oxide prolongs storage longevity of lychee and longan. *HortSci*, 1991, 26: 597~599
- 26 Saltveit ME. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biol Technol*, 1999, 15: 279~292
- 27 Paul RE, Chen NJ, Deputy J. Physiological changes associated with senescence of cut anthurium flowers. *J Am Soc Hortic Sci*, 1985, 110(2): 156~162
- 28 段学武, 蒋跃明, 李月标等. 一氧化二氮处理提高香蕉保鲜效果. *食品科学*, 2003, 24(4): 152~154
- 29 Hausladen A, Stamler JS. Nitric oxide in plant immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 10245~10347
- 30 Noritake T, Kawakita K, Doke N. Nitric oxide induces phytoalexin accumulation in potato tuber tissues. *Plant Cell Physiol*, 1996, 37: 113~116
- 31 Ku VVV, Wills RBH, Leshem YY. Use of nitric oxide to reduce postharvest water loss from horticultural produce. *J Horti Sci Biotechnol*, 2000, 75(3): 268~270
- 32 Reid MS, Paul JL, Farhoomand MB et al. Pulse treatments with silverthiosulfate complex extend the vase life of cut carnations. *J Am Soc Hortic Sci*, 1980, 105: 25~27
- 33 Wang H, Woodson WR. Reversible inhibition of ethylene action and interruption of petal senescence in carnation flowers by norbornadiene. *Plant Physiol*, 1989, 89: 434~438
- 34 Byers RE. Peach and neclarine fruit softening, following aminoethoxyvinylglycine sprays and dips. *HortSci*, 1996, 32: 86~88
- 35 Sisler EC, Reid MS, Yang SF. Effect of antagonists of ethylene action on binding of ethylene in cut carnations. *Plant Growth Regul*, 1986, 4: 213~218
- 36 Sisler EC, Blankenship SM. DACP, a light sensitive reagent for the ethylene receptor in plants. *Plant Growth Regul*, 1993, 12: 125~132
- 37 Snyder SH. Nitric oxide: first in a new class of neurotransmitters. *Science*, 1992, 257: 494~496
- 38 Soegiarto L, Wills RBH, Seberry JA et al. Nitric oxide degradation in oxygen atmospheres and rate of uptake by horticultural produce. *Postharvest Biol Technol*, 2003, 28: 327~331