

## 外源脱落酸处理对蓝莓采后低温胁迫下生理响应的影响

房祥军<sup>1,2</sup>, 吴伟杰<sup>2</sup>, 穆宏磊<sup>2</sup>, 陈杭君<sup>2</sup>, 郑小林<sup>1\*</sup>, 郜海燕<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>浙江工商大学食品与生物工程学院 杭州 310018

<sup>2</sup>浙江省农业科学院食品科学研究所 农业农村部果品采后处理重点实验室

浙江省果蔬保鲜与加工技术研究重点实验室 中国轻工业果蔬保鲜与加工重点实验室 杭州 310021)

**摘要** 以园蓝蓝莓为研究对象,分别采用 400,600  $\mu\text{mol/L}$  和 800  $\mu\text{mol/L}$  的脱落酸溶液喷淋处理,研究脱落酸对低温贮藏蓝莓的硬度、可溶性固形物(TSS)、细胞膜透性、渗透调节物质、抗氧化物含量、抗氧化酶活性等相关生理指标的影响。通过主成分分析和相关性分析,探讨脱落酸处理对蓝莓低温胁迫的生理响应。结果表明:600  $\mu\text{mol/L}$  脱落酸处理蓝莓贮藏 35 d,硬度降低至对照组的 87.8%,可溶性固形物增加至对照组的 103.2%。相对电导率比对照组降低 5.05%,丙二醛(MDA)含量降至对照组的 90.7%。脯氨酸和可溶性蛋白的含量分别比对照组提高了 1.16 倍和 1.4 倍。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性分别比对照组提高了 1.51,1.26 倍和 1.18 倍,花色苷和抗坏血酸(AsA)的含量比对照组提高了 1.72 倍和 1.34 倍。保持较高的抗氧化酶活性和抗氧化物的含量,提高了蓝莓果实的抗冷性,有助保持蓝莓果实的品质。主成分分析和相关性分析表明相对电导率(REC)、丙二醛、脯氨酸(Pro)、和超氧阴离子( $\text{O}_2^-$ )与蓝莓果实的抗冷性密切相关,可作为评价抗冷性的指标。

**关键词** 蓝莓;脱落酸;低温耐受;生理响应

文章编号 1009-7848(2023)02-0232-11 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.02.023

蓝莓(*Vaccinium corymbosum* L.)为杜鹃花科越橘属植物,富含花色苷、VC 等抗氧化活性物质,具有保护视力、抗肿瘤、预防心血管疾病等多种药用价值<sup>[1-3]</sup>。蓝莓采收季节高温多雨,果实含水量高,采收过程的机械损伤和微生物侵染易造成蓝莓果实腐烂软化,缩短其贮藏期<sup>[4-5]</sup>。温度是影响果蔬贮藏期和品质的最重要的因素,控制环境温度可有效延长果蔬的贮藏期。低温贮藏是蓝莓鲜果生产中普遍应用的贮藏方法<sup>[6-7]</sup>。在不影响果蔬正常生理代谢的情况下,贮藏温度越低,贮藏期越长。然而,长时间的低温贮藏易导致果蔬组织产生冷害,反而降低其贮藏期和品质。

脱落酸(Abscisic acid, ABA)是一种半倍萜羧酸类植物激素,在高等植物体内广泛分布,对植物生长发育的多个环节起到调节作用。ABA 的生

理作用主要体现在抑制生长和抵抗逆境等方面。例如:抑制种子萌发,调控植物气孔关闭,促进叶片衰老及抵抗干旱胁迫、盐胁迫和高低温胁迫等<sup>[8-10]</sup>。目前对 ABA 抗逆性的研究主要集中在植株生长发育过程中重金属胁迫、盐胁迫、干旱胁迫等方面<sup>[11-12]</sup>,在果蔬采后抗逆性方面的研究较少,低温贮藏下蓝莓果实对外源 ABA 的生理响应机制尚不清楚。

本研究以浙江地区主栽“园蓝”蓝莓为试验材料,用不同浓度的 ABA 溶液对采后蓝莓进行处理,在(2±1) °C 贮藏 35 d,探讨细胞膜透性、丙二醛(MDA)含量、抗氧化物质含量、抗氧化酶等生理指标的变化与果实抗逆性的关系,以期为蓝莓低温贮藏提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

1.1.1 材料 供试蓝莓品种为园蓝,2019 年 7 月 29 日采自浙江新昌兆丰生态园,采摘采收后 3 h 内用保鲜车运回实验室,2 °C 预冷备用。

1.1.2 试剂 三氯乙酸、胆汁酸、磺基水杨酸、冰醋酸、茚三酮、甲苯、考马斯亮蓝 G-250、丙酮、浓

收稿日期: 2022-12-31

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD2100502-1-2); 杭州市农业与社会发展科研主动设计项目(20190101A06)

第一作者: 房祥军,男,博士生

通信作者: 郑小林 E-mail: zheng9393@163.com  
郜海燕 E-mail: spsghy@163.com

氨水、KNO<sub>2</sub>、抗坏血酸、邻菲罗琳, 国药集团化学试剂有限公司; 矢车菊-3-葡萄糖苷标准品, 上海阿拉丁试剂有限公司; 脱落酸, Sigma-Aldrich 公司; SOD 试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

## 1.2 仪器与设备

TA-XT plus 质构仪, 英国 SMS 公司; CHROMA METER CR-400 手持色差仪, 日本 SEMSING 公司; Metrohm 877 Titrino plus 自动滴定仪, 瑞士万通公司; LB 20T 数显糖度计, 广州市速为电子科技有限公司; GBC Cintra 20 紫外-可见光光度计, 澳大利亚 GBC 公司; Thermo MR 23i 高速低温冷冻离心机, 法国 JOUAN 公司。

## 1.3 方法

试验设 1 个对照组 C<sub>1</sub>(清水对照)和 3 个处理组: C<sub>2</sub>(400 μmol/L)、C<sub>3</sub>(600 μmol/L)和 C<sub>4</sub>(800 μmol/L), 每处理组设 3 个重复。蓝莓样品分别经不同浓度的脱落酸溶液喷淋, 2℃下自然风干, 之后转入 2℃低温贮藏, 环境湿度 90%~95%。分别在贮藏第 0, 7, 14, 21, 28 天和 35 天取样测定。样品用液氮速冻后置于-80℃超低温冰箱中保存。

**1.3.1 硬度测定** 参考 Chu 等<sup>[13]</sup>的方法, 采用 TA-XT Plus 质构仪测定蓝莓的硬度。每个处理随机抽取 15 个蓝莓果实。用 P/6 不锈钢探头(直径 6 mm, 压力距离 5 mm, 测量速度 1 mm/s), 硬度值以最大断裂力(N)表示。

**1.3.2 可溶性固形物(TSS)含量** 每个处理随机选择 8 个蓝莓果实, 挤压取果汁, 蒸馏水调零, 数显手持糖度计测定 TSS。

**1.3.3 相对电导率(REC)** 蓝莓果实切成厚度为 1 mm 的薄片, 于 25 mL 试管中定容, 110 r/min 振荡 30 min, 此时溶液测定的电导率为 P<sub>1</sub>(s/m); 煮沸 10 min, 迅速冷却, 定容至原刻度, 测定溶液电导率为 P<sub>2</sub>(s/m), 去离子水测得的电导率为 P<sub>0</sub>(s/m)。相对电导率按以下公式计算:

$$P(\%) = \frac{P_1 - P_0}{P_2 - P_0} \times 100 \quad (1)$$

**1.3.4 丙二醛(MDA)含量** MDA 含量的测定参考 Chen 等<sup>[14]</sup>的方法, 稍作修改。1 g 冷冻研磨的蓝莓与 5 mL 100g/L TCA 混匀后离心。0.5 mL 上清液与 3 mL 0.67% TBA 混合后沸水浴 20 min, 冷却至室温后分别测定 OD<sub>450nm</sub>、OD<sub>532nm</sub>、OD<sub>600nm</sub>。丙二

醛含量以 μmol/g 表示。

**1.3.5 脯氨酸(Pro)含量** 0.5 g 蓝莓样品在 5 mL 3%磺基水杨酸中研磨, 沸水浴提取 10 min, 吸取 2 mL 冷却后的滤液加入 2 mL 冰醋酸和 2 mL 酸性茚三酮, 沸水浴加热 30 min 后加入 4 mL 甲苯显色, 在波长 520 nm 处测定吸光度值, 通过标准曲线计算脯氨酸含量<sup>[15]</sup>, 脯氨酸的含量以每 kg 蓝莓鲜重(FW)中含有的脯氨酸的 μg 数表示。

**1.3.6 可溶性蛋白(SP)的含量** 可溶性蛋白采用考马斯亮蓝 G-250 比色法测定。0.2 g 蓝莓果肉匀浆, 定容至 10 mL, 匀浆液 5 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清 0.1 mL, 加入 0.9 mL 蒸馏水和 5 mL 考马斯亮蓝 G-250, 旋转混匀, 2 min 后测定波长 595 nm 处的吸光度值, 并根据标准曲线计算 SP 含量。

**1.3.7 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量测定参考 Ferguson 等<sup>[16]</sup>的方法, 稍作修改。冷冻研磨的蓝莓样品 1 g, 加入 5 mL 预冷丙酮充分混匀提取, 离心后吸 0.5 mL 上清液, 加入 0.5 mL 预冷丙酮, 0.1 mL 10% TiCl<sub>4</sub>-HCl, 0.2 mL 浓氨水后混匀反应 5 min 后离心, 向沉淀中加入 3 mL 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 完全溶解后测定 OD<sub>412nm</sub>。绘制标准曲线, 计算样品 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量, 结果以 μmol/g 表示。

**1.3.8 超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)生成速率** O<sub>2</sub><sup>-</sup>生成速率的测定参照孙莎等<sup>[17]</sup>的方法, 以 KNO<sub>2</sub> 作为标准参照, 以 μmol/min·g 为单位计算样品中 O<sub>2</sub><sup>-</sup>的生成速率。

**1.3.9 超氧化歧化物酶(SOD)的活性** 采用南京建成 SOD 试剂盒进行测定。计算公式如下:

$$\begin{aligned} \text{总 SOD 酶活 [U/(min} \cdot \text{mg Pro)]} &= \\ & \frac{\text{对照 OD 值} - \text{测定 OD 值}}{\text{对照 OD 值}} \div 50\% \times \\ & \frac{\text{反应液总体积}}{\text{取样量}} \div \text{匀浆质量浓度} \quad (2) \end{aligned}$$

**1.3.10 过氧化氢酶(CAT)** 参考胡琼英等<sup>[18]</sup>的方法并略作改动, 测定蓝莓中 CAT 活性。反应酶液制备: 冷冻研磨的蓝莓 1.0 g, 加入 pH 7.8 的 5 mL 缓冲溶液, 冰浴提取 30 min, 上述提取液在 4℃、10 000 r/min 条件下离心 30 min, 取上清液备用。

酶活性测定方法如下: 反应液体系包含 3 mL 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.8)、0.2 mL 上清

酶液、0.4 mL 0.75% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。加入反应液后混匀,立即测定波长 240 nm 处 3 min 内光吸收度值的变化。以波长 240 nm 处吸收度值每分钟变化 0.01 表示一个酶活单位(U)。

1.3.11 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) APX 酶活测定参照曹建康等<sup>[19]</sup>方法,略有改动。1 g 冷冻研磨的蓝莓果肉,加入 5 mL 0.1 mol/L (pH 7.5) 磷酸钾缓冲液 (含 0.1 mol/L EDTA、1 mmol/L AsA 和 2% PVPP), 4 °C 12 000×g 高速离心 15 min; 反应体系中依次加入 2.6 mL 50 mmol/L pH 7.5 硼酸钾缓冲液 (含 0.1 mol/L EDTA 和 0.5 mmol/L AsA) 和 0.1 mL 酶提取液, 最后加入 0.3 mL 2 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液启动反应, 涡旋混匀, 迅速测定反应液在波长 290 nm 处的吸光值。

1.3.12 花色苷含量 花色苷含量测定参考 Correa-Betanzo 等<sup>[20]</sup>的方法, 采用 pH 值示差法稍作修改。称取冷冻研磨蓝莓样品 1.0 g, 加入 pH 3.0 的 60% 乙醇溶液, 按料液比 1:20 混合均匀, 40 °C 水浴浸提 2 h。吸取抽滤后滤液 0.1 mL, 分别用 0.2 mol/L KCl 缓冲液 (pH 1.0) 和 1 mol/L NaAc 缓冲液 (pH 4.5) 定容至 10 mL, 以蒸馏水为对照, 分别测定溶液在波长 510 nm 和 700 nm 处的吸光度, 结果以克冻样所含矢车菊-3-葡萄糖苷的毫克数 (mg/g) 表示。

$$\text{花色苷含量 (mg/g)} = \frac{A \times MW \times V}{\epsilon \times m} \times DF \times 1 \quad (3)$$

式中, A——pH 1.0 与 pH 4.5 处 ( $A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$ ) 的差值; MW——矢车菊素-3-葡萄糖苷分子量 (取 449.2); DF——稀释倍数;  $\epsilon$ ——矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数 (取 26 900); V——提取液的总体积, mL; m——称取的蓝莓样品的质量; l——比色皿光程 (1 cm)。

1.3.13 抗坏血酸 (AsA) 含量 AsA 含量的测定参考吴媛媛等<sup>[21]</sup>的方法, 1 g 样品加入 5 mL 5% 三氯乙酸 (TCA) 溶液, 混匀离心取上清液 0.1 mL, 加入 1.9 mL TCA, 1 mL 无水乙醇, 0.5 mL 0.5% 磷酸-乙醇, 1 mL 0.5% 邻菲罗琳-乙醇, 0.5 mL 0.03% FeCl<sub>3</sub>-乙醇, 于 30 °C 水浴 60 min, 测定 OD<sub>534nm</sub>, 每个样品重复 3 次, AsA 含量以 mg/100 g 表示。

#### 1.4 数据处理方法

采用 GraphPad Prism 9.0 做图, SPSS 16.0 对

数据分析, 用 Duncan 新复极差法 ( $P < 0.05$ ) 进行差异显著性比较, Origin pro 2021 进行主成分分析、相关性分析和聚类分析。各项指标测定均重复 3 次, 试验结果以平均值±标准偏差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 ABA 处理对低温贮藏下蓝莓硬度和 TSS 含量的影响

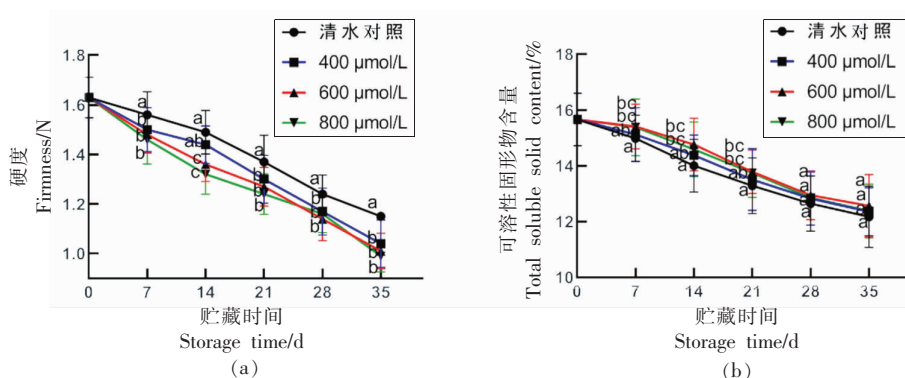
硬度是指果实品质的重要指标, 随着果实的成熟, 水溶性果胶、半纤维素和纤维素水平降低<sup>[22]</sup>。TSS 含量的高低与果实的成熟度有关, 同时也会影响果蔬的风味。由图 1 所示, 在贮藏过程中, 各组处理蓝莓果实的硬度和 TSS 含量均呈现不同幅度下降的趋势, 这与果实的后熟及衰老进程有关。其中对照组维持相对较高的硬度和较低的 TSS 含量。经不同浓度的 ABA 处理后, 加速了蓝莓果实的硬度降低和 TSS 含量的升高, 其中以 600  $\mu\text{mol/L}$  和 800  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理效果较为明显, 与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )。在贮藏至 35 d, 600  $\mu\text{mol/L}$  和 800  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理的果实硬度分别为对照组的 87.8% 和 86.1%; TSS 含量分别为对照组的 103.2% 和 101.6%。

本研究发现 ABA 处理降低了蓝莓果实硬度, 提高了 TSS 含量。该研究结果与张帆<sup>[23]</sup>报道的蓝莓的硬度与 ABA 的含量呈显著负相关的结果相似, 表明 ABA 处理促进了蓝莓的成熟。

### 2.2 ABA 处理对低温贮藏下蓝莓相对电导率 (REC) 和 MDA 含量的影响

相对电导率的变化指示细胞膜透性的改变, 通常用细胞膜透性的变化来反映细胞膜结构完整性和损伤程度<sup>[24]</sup>。贮藏前期变化缓慢, 7 d 后相对电导率上升趋势明显, 可能由于低温胁迫及果实衰老导致细胞膜损伤程度增加造成。对照组果肉细胞膜透性的变化较大, 在贮藏 35 d 时相对电导率达到 71.46%; 600  $\mu\text{mol/L}$  处理上升趋势较其它处理组缓慢, 贮藏 35 d 相对电导率为 66.41%, 与对照相比差异显著 ( $P < 0.05$ )。结果表明, 600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理降低了细胞膜破坏程度。

MDA 是生物细胞膜脂质发生过氧化的产物, 其含量是衡量植物细胞衰老和膜脂质受损伤程度的重要指标。随着贮藏时间的延长, MDA 含量不



注:清水对照、400  $\mu\text{mol/L}$ 、600  $\mu\text{mol/L}$ 、800  $\mu\text{mol/L}$  分别代表蓝莓样品用蒸馏水、400、600、800  $\mu\text{mol/L}$  的 ABA 溶液喷淋处理,自然风干。同一贮藏时间不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),下同。

图 1 ABA 处理对采后蓝莓低温贮藏硬度和可溶性固形物含量的影响

Fig.1 Effect of ABA treatment on firmness and total soluble solids content of postharvest blueberry during low temperature storage

断增加。ABA 处理不同程度的抑制了 MDA 含量升高,其中以 600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理的效果最为显著。贮藏至 35 d,MDA 含量为 CK 的 90.7%,差异显著( $P<0.05$ ),说明 ABA 处理维持了细胞膜的完整性、减轻了蓝莓膜脂过氧化程度。减轻 MDA 对细胞膜的伤害,提高了其抵御低温胁迫的能力。

植物在受到外界不良环境侵袭时,细胞膜会首先起到防御功能。低温改变了细胞膜的通透性,导致细胞内物质流出;同时导致细胞内大量活性氧的累积,活性氧会导致细胞膜脂氧化,产生大量 MDA。MDA 与蛋白质、核酸结合,阻碍相关蛋白质

的合成,对细胞膜造成损伤。甘薯低温冷藏研究发现,降低膜渗透性、MDA 水平和活性氧自由基(ROS)的产生,保持较高的抗氧化酶活性、抗坏血酸和总酚含量,增强抗氧化保护系统,可抑制甘薯块根冷害的发生<sup>[25]</sup>。低温可诱导甜瓜内源 ABA 的合成,保持甜瓜细胞膜结构的完整性,从而提高甜瓜的氧化应激耐受性,提高甜瓜的抗寒性和光合作用<sup>[26]</sup>。本研究的结果也表明,ABA 处理降低了细胞膜的透性,抑制了 MDA 含量的增加,从而维持细胞的正常生理功能,提高其低温耐受性。

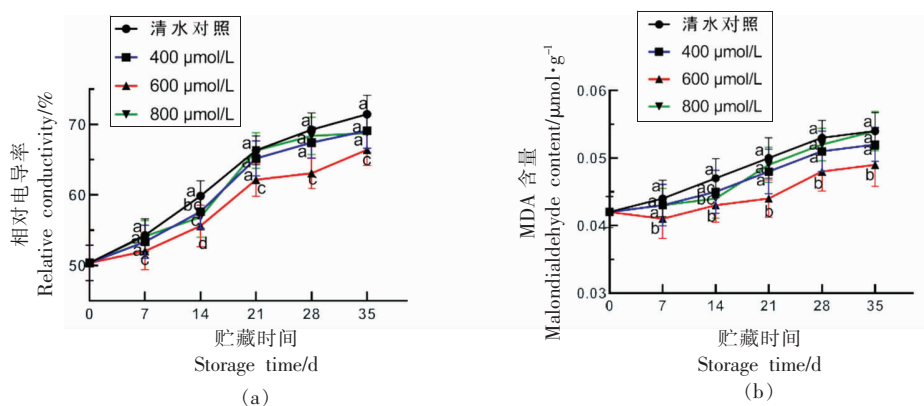


图 2 ABA 处理对采后蓝莓低温贮藏相对电导率和 MDA 含量的影响

Fig.2 Effect of ABA treatment on relative conductivity and MDA content of postharvest blueberries during low-temperature storage

### 2.3 ABA 处理对低温贮藏下蓝莓 Pro 和 SP 含量的影响

Pro 和 SP 是植物体内的重要渗透调节物质,

Pro 和 SP 起到调节植物细胞的渗透压、降低冰点的作用。从图 3 可知,在整个贮藏过程中,Pro 和 SP 的含量不断升高。外源 ABA 处理提高了蓝莓

果实中 Pro 和 SP 的含量,其中以 600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理效果最为明显。贮藏至 35 d,600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理 Pro 含量和 SP 含量分别是对照组的 1.16 倍和 1.4 倍,差异显著( $P<0.05$ )。

Pro 和 SP 作为植物抗逆调节物质在多种植物都有报道。低温应激可促进甜瓜中 Pro 的积累,

ABA 作为信号分子通过调控 Pro 代谢关键基因的表达来调节 Pro 的积累<sup>[27]</sup>。盐、脱水、PEG 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理通过 Pro 合成和分解代谢协同调节 Pro 积累以响应非生物胁迫<sup>[28]</sup>。研究表明,外源褪黑素处理提高了冷藏处理的芒果中 Pro 的含量,降低了芒果的冷害指数,保持了果实品质<sup>[29]</sup>。

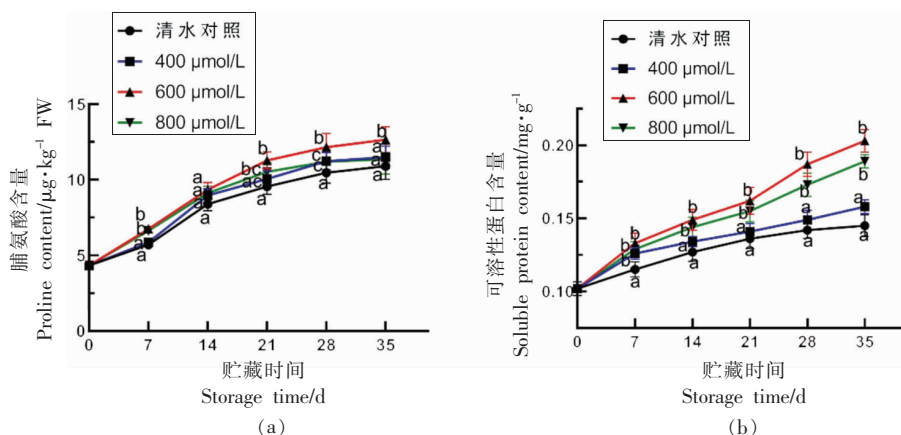


图3 脱落酸处理对采后蓝莓低温贮藏脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effects of abscisic acid treatment on the content of proline and soluble protein in postharvest blueberries during cold storage

#### 2.4 ABA 处理对低温贮藏下蓝莓 $\text{H}_2\text{O}_2$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成速率影响

正常生理情况下,植物体内的自由基处于动态平衡状态。在遭受低温、干旱等逆境胁迫时,体内的自由基平衡被破坏打破,导致大量 ROS 积累,从而引起膜脂氧化和细胞损伤<sup>[30]</sup>。过度累积  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2^{\cdot-}$  等会引起核酸结构改变,氧化蛋白质和脂质氧化,导致细胞损伤和凋亡。由图 4 可知,

蓝莓在低温贮藏过程中, $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2^{\cdot-}$  不断累积。脱落酸处理对  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2^{\cdot-}$  的生成具有抑制作用,特别是在贮藏中期更为显著。贮藏至第 21 天,600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理组的  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量是对照组的 90.1%; $\text{O}_2^{\cdot-}$  生成速率是对照组的 79.45%,差异显著( $P<0.05$ )。

低温破坏了植物体内 ROS 平衡,过量的 ROS 会攻击细胞大分子,造成蛋白质损伤、脂质过氧

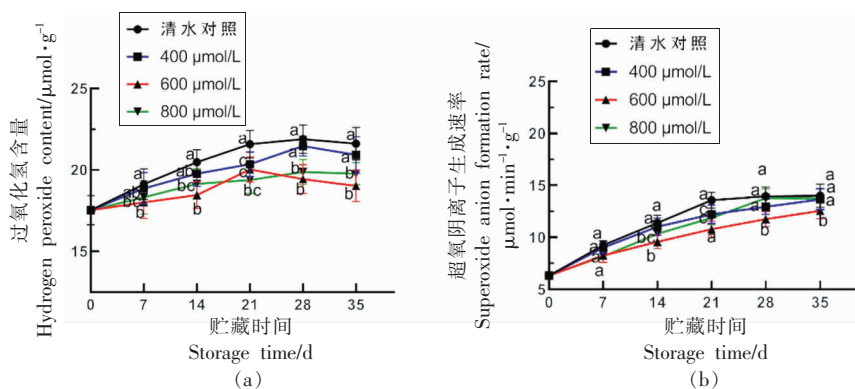


图4 ABA 处理对采后蓝莓低温贮藏  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量和  $\text{O}_2^{\cdot-}$  生成速率的影响

Fig.4 Effect of ABA treatment on hydrogen peroxide content and superoxide anion formation rate of postharvest blueberry during low temperature storage

化、DNA 突变和酶失活等,进而损伤植株。青椒在低温下长时间贮藏会产生冷害,冷激+草酸联合处理可以抑制  $O_2^-$  产生、 $H_2O_2$  含量、MDA 水平和相对膜透性的增加,并提高了抗氧化酶活性和 Pro 积累来减轻青椒果实的冷害<sup>[31]</sup>。

## 2.5 ABA 处理对低温贮藏蓝莓抗氧化酶(SOD、CAT、APX)活性的影响

植物的抗氧化酶系统由 SOD、CAT、APX 等组成,抗氧化酶可以减少 ROS 积累,降低活性氧带来的损伤<sup>[32]</sup>。抗氧化酶活性提高可以提升 ROS 清除能力,减轻 MDA 造成的细胞膜伤害,保护细胞膜结构的完整性,维持其正常的生理功能,从而提高蓝莓的低温抗冷性。图 5 显示对照组与处理组果实 SOD、CAT 和 APX 酶活性先上升后降低,在第 7 天左右上升至高峰,而后缓慢下降。和对照相比,ABA 处理能维持较高的 SOD 和 APX 酶的活性,CAT 酶活性在贮藏前期低于对照组,21 天后,ABA 处理能维持较高的 CAT 酶活性,其中 600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理效果最好。贮藏至 35 d,SOD、CAT 和 APX 活性分别是对照组的 1.51,1.26 倍和 1.18 倍,与对照组相比差异显著( $P<0.05$ )。

植物中的抗氧化酶系统可以在细胞受到胁迫时消除活性氧,减少细胞损伤。ABA 处理显著提高了干旱胁迫下番茄幼苗抗逆性,上调 *SISOD*、*SICAT* 和 *SIAPX* 的基因表达量,进而增加了干旱胁迫下 SOD、CAT 和 APX 酶的活性,有效缓解了干旱胁迫对番茄幼苗造成的氧化性伤害,稳定细胞膜结构,增强番茄幼苗的抗旱性<sup>[33]</sup>。栝楼在铝胁迫下抗氧化酶活性受到抑制,ABA 处理后显著增强了抗氧化酶 SOD、POD、CAT 等的活性,使栝楼具有更强的抗氧化活性去适应铝胁迫<sup>[34]</sup>,这与本研究中 ABA 处理提高了抗氧化酶活性,增强其抗低温胁迫的研究结果相一致。

## 2.6 ABA 处理对低温贮藏蓝莓花色苷和 AsA 含量的影响

花色苷和 AsA 是蓝莓中主要的抗氧化功能成分,共同组成蓝莓的非酶抗氧化系统,花色苷和 AsA 的含量变化与果实品质密切相关。在贮藏过程中,花色苷含量呈先上升后下降的趋势,在贮藏至 7 d 到达峰值,之后随贮藏时间逐渐下降。ABA 处理显著促进了蓝莓花色苷的合成,其中以 600

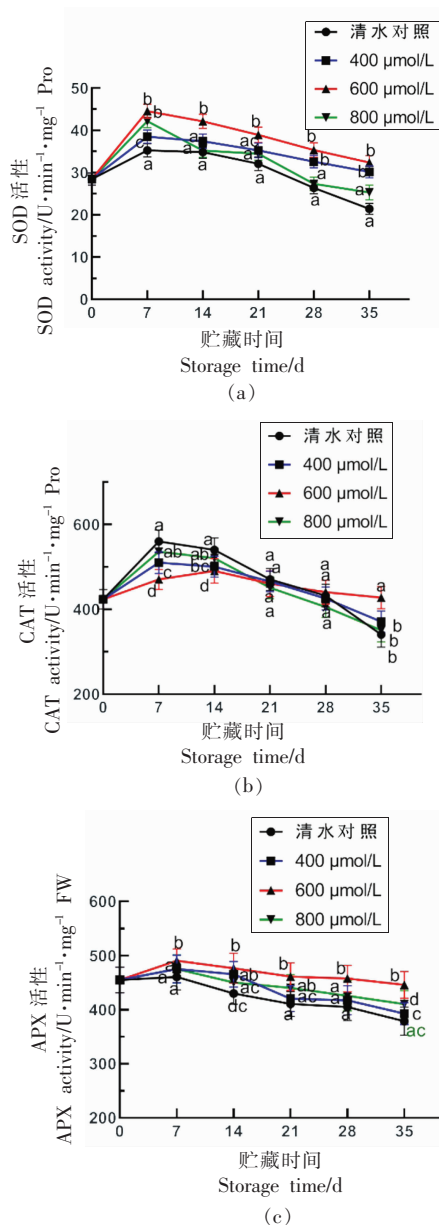


图 5 ABA 处理对采后蓝莓低温贮藏抗氧化酶(SOD、CAT、APX)活性影响

Fig.5 Effect of ABA treatment on the activities of antioxidant enzymes (SOD, CAT, APX) of blueberry during low temperature storage

$\mu\text{mol/L}$  ABA 处理效果最好。贮藏至 35 d,600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理的蓝莓花色苷的含量是对照组的 1.72 倍,差异显著( $P<0.05$ )。AsA 含量在贮藏过程中逐渐下降。ABA 处理可抑制 AsA 含量的下降速度,维持较高的 AsA 水平。600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理组的作用效果最为明显,贮藏至 35 d,600

$\mu\text{mol/L}$  ABA 处理组的 AsA 含量是对照组的 1.34 倍。

研究发现,ABA 处理可显著提高果实中花色苷和 AsA 含量,特别是花色苷,具有促进花色苷

合成,提高果实品质的功效<sup>[35]</sup>。同时花色苷和 AsA 作为抗氧化物质,对提高其自身的抗氧化能力也能起到一定作用。

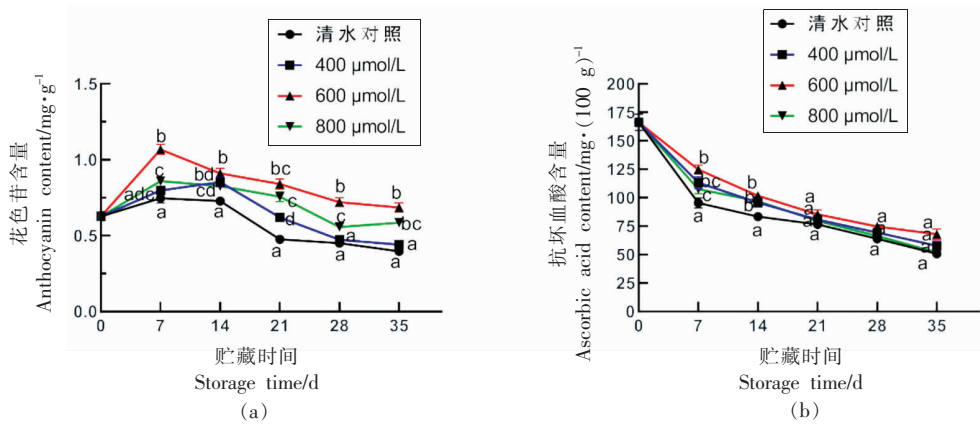


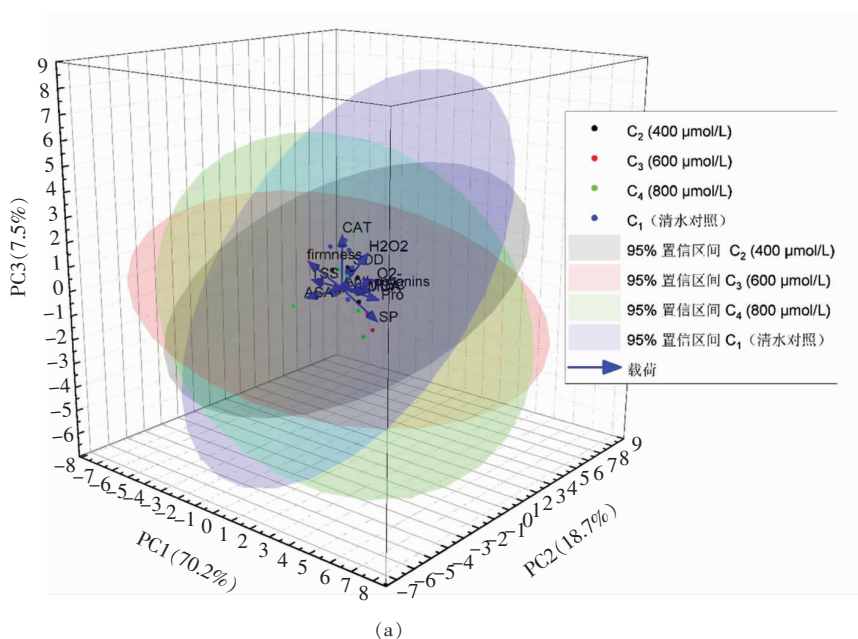
图 6 ABA 处理对采后蓝莓低温贮藏花色苷和抗坏血酸含量的影响

Fig.6 Effect of ABA treatment on anthocyanin and AsA content of postharvest blueberry during low temperature storage

### 2.7 相关性分析

对蓝莓果实中的 13 种生理生化指标进行主成分分析,通过主成分分析共提取出 3 个主成分(图 7a)。PCA 模型显示出数据集的总方差为 96.4%(其中 PC1 方差贡献率为 70.2%,PC2 方差贡献率为 18.7%,PC3 方差贡献率为 7.5%)几乎包含了蓝莓样品的所有信息。PCA 结果表明可以很

好的解释不同脱落酸浓度处理下蓝莓抗冷性相关指标之间的变异信息。其中 PC1 和 PC2 的特征值大于 1,说明提取因素可以反映 PCA 得分总体特征。由前 2 个综合指标的特征值向量可以看出,主成分 1 中 REC、MDA、Pro、 $\text{O}_2^-$ 的特征向量值较大;主成分 2 中 SOD 和花色苷的特征向量值较大。综合相关性分析结果,蓝莓果实中的 REC、MDA、Pro



(a)

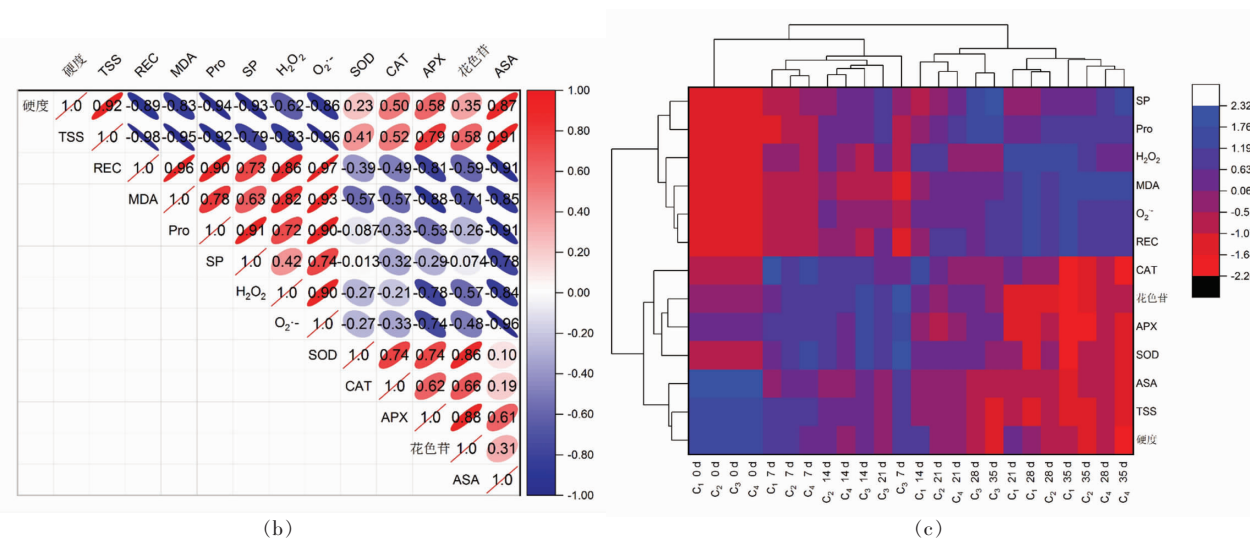


图 7 ABA 处理蓝莓果实的生理生化指标的 PCA 图、相关性分析图和聚类热图

Fig.7 PCA diagram, correlation analysis diagram and cluster heat map of physiological and biochemical indexes of blueberry fruit treated with ABA

和  $O_2^-$  可以作为评价其抗冷性的指标。从主成分分析的原理可知, 样品在得分图上的距离的远近反映出样品间组分和含量的接近程度。从主成分分析图上可以看出, 600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理组和对照组的蓝莓明显分开, 说明 ABA 处理对蓝莓低温抗冷性具有显著影响。从相关性分析图 7b 可以看出, REC、MDA、Pro、SP、 $H_2O_2$ 、 $O_2^-$  之间呈显著正相关 ( $P < 0.01$ ); 硬度、TSS 和 REC、MDA、Pro、SP、 $H_2O_2$ 、 $O_2^-$  之间呈显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 这与聚类热图 7c 的分析结果一致。在聚类热图上, 硬度和 TSS 被聚为一类, REC、MDA、Pro、SP、 $H_2O_2$  和  $O_2^-$  被聚为一类。从聚类热图 7c 还可以看出, 贮藏时间是影响蓝莓采后品质变化的主要因素。0 d 到 14 d 的样品大致被聚为一类, 21 d 到 35 d 的样品被聚为一类, 不同贮藏时间的蓝莓被聚在一起。同时还可以看出 ABA 处理对蓝莓品质指标的影响。其中 600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理组的样品与对照组的间隔最远, 说明 600  $\mu\text{mol/L}$  ABA 处理组蓝莓的抗冷性指标变化和对照组差异较大, 具有较好的处理效果。

### 3 结论

ABA 对采后蓝莓抵御低温胁迫起重要的作用, 通过外源 ABA 处理可显著提高蓝莓的抗低温

胁迫能力。ABA 处理可通过提高蓝莓的抗氧化酶 SOD、CAT、APX 等的活性, 降低过 ROS, 维持细胞膜的完整性; 提高蓝莓果肉组织中 Pro 和 SP 等渗透调节物质的含量, 保持较高的花色苷和 AsA 等抗氧化物质含量, 提高其抗低温逆境能力。其中 REC、MDA、Pro、 $O_2^-$  可以作为蓝莓抗冷性的指标。ABA 具有安全、用量低、使用方便等优点, 在蓝莓等浆果的低温长时间贮藏品质保持中具有潜在的应用价值。

### 参 考 文 献

- [1] DUAN Y, TARAFDAR A, CHAURASIA D, et al. Blueberry fruit valorization and valuable constituents: A review[J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 381: 109890.
- [2] MARTINI D, MARINO M, VENTURI S, et al. Blueberries and their bioactives in the modulation of oxidative stress, inflammation and cardio/vascular function markers: A systematic review of human intervention studies[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2023, 111: 109154.
- [3] YANG W J, GUO Y X, LIU M, et al. Structure and function of blueberry anthocyanins: A review of recent advances [J]. Journal of Functional Foods, 2022, 88: 104864.



- [4] YAN Z C, WANG H B, KOU X H, et al. Metabolomics analysis reveals that MeJA treatment induces postharvest blueberry resistance to *Botrytis cinerea* [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2022, 194: 112075.
- [5] ZHENG Z Q, AN Z M, YANG Y et al. Metabolic profiling of blueberries (*Vaccinium* Spp.) to quantitatively and qualitatively assess bruise damage and fruit deterioration[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2023, 195: 112135.
- [6] GE Y H, LI X, LI C Y, et al. Effect of sodium nitroprusside on antioxidative enzymes and the phenylpropanoid pathway in blueberry fruit[J]. *Food Chemistry*, 2019, 295: 607–612.
- [7] ZHOU Q, ZHANG C L, CHENG S C, et al. Changes in energy metabolism accompanying pitting in blueberries stored at low temperature [J]. *Food Chemistry*, 2014, 164: 493–501.
- [8] 孙仙泽, 王政委, 姜贵诚, 等. 外源脱落酸和茉莉酸甲酯调控低温胁迫下冬小麦 miR444a 及其靶基因 *TaMADS57* 表达[J]. *植物生理学报*, 2022, 58(4): 708–722.
- SUN X Z, WANG Z W, LOU G C, et al. Exogenous abscisic acid and methyl jasmonate regulate the expression of miR444a and target gene *TaMADS57* in winter wheat under cold stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2022, 58(4): 708–722.
- [9] LUN X J, ZENG W Q, WANG L, et al. Transcriptomic insights into the effects of abscisic acid on the germination of *Magnolia sieboldii* K. Koch seed[J]. *Gene*, 2023, 853: 147066.
- [10] WANG B X, LI L Q, PENG, D, et al. *Tafdl2-1a* interacts with *tabzip8-7a* protein to cope with drought stress via the abscisic acid signaling pathway[J]. *Plant Science*, 2021, 311: 111022.
- [11] MENG Y T, HUANG J, JING H K, et al. Exogenous abscisic acid alleviates Cd toxicity in *Arabidopsis thaliana* by inhibiting Cd uptake, translocation and accumulation, and promoting Cd chelation and efflux[J]. *Plant Science*, 2022, 325: 111464.
- [12] SRIVASTAVA D, VERMA G, CHAWDA K, et al. Overexpression of *Asr6*, abscisic acid stress-ripening protein, enhances drought tolerance and modulates gene expression in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2022, 202: 105005.
- [13] CHU W J, GAO H Y, CHEN H J, et al. Effects of cuticular wax on the postharvest quality of blueberry fruit[J]. *Food Chemistry*, 2018, 239: 68–74.
- [14] CHEN H J, GAO H Y, FANG X J, et al. Effects of allyl isothiocyanate treatment on postharvest quality and the activities of antioxidant enzymes of mulberry fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2015, 108: 61–67.
- [15] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 202–206.
- WANG X K. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 202–206.
- [16] FERGUSON I B, WATKINS C B, HARMAN J E. Inhibition by calcium of senescence of detached cucumber cotyledons[J]. *Plant Physiology*, 1983, 71(1): 182–186.
- [17] 孙莎, 郜海燕, 熊涛, 等. 五倍子提取液对蓝莓采后病害和品质的影响[J]. *林业科学*, 2018, 54(6): 53–62.
- SUN S, GAO H Y, XIONG T, et al. The effect of galla chinensis extract on postharvest disease and storage quality of blueberry[J]. *Scientia Sive Sini-cae*, 2018, 54(6): 53–62.
- [18] 胡琼英, 狄溯. 生物化学实验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 7.
- HU Q Y, DI L. Biochemistry experiment [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 7.
- [19] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 131–132.
- CAO J K, JIANG W B, ZHAO Y M. Postharvest physiological and biochemical experiments of fruits and vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 131–132.
- [20] CORREA-BETANZO J, ALLEN-VERCOEE, McDONALD J, et al. Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. *Food Chemistry*, 2014, 165(20): 522–531.
- [21] 吴媛媛, 刘瑞玲, 郜海燕, 等. 灰霉菌侵染对蓝莓采后品质变化及抗氧化性的影响[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(1): 148–155.
- WU Y Y, LIU R L, GAO H Y, et al. Effects of *Botrytis cinerea* infection on post-harvest quality and antioxidant activities in blueberry fruits[J]. *Journal of*

- Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(1): 148–155.
- [22] 张琴, 唐凤仙, 宋文, 等. 不同贮藏温度下伽师瓜硬度变化的转录组分析[J]. 中国食品学报, 2022, 22(7): 193–202.
- ZHANG Q, TANG F X, SONG W, et al. Transcriptome analysis of firmness change in Jiashi melon fruit at different storage temperatures[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(7): 193–202.
- [23] 张帆. 脱落酸在采后蓝莓果实软化过程中的作用及机理研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- ZHANG F. Effect and mechanism of abscisic acid on postharvest softening of blueberry fruit [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.
- [24] 林毅雄, 林艺芬, 陈莲, 等. 解偶联剂 DNP 处理对采后龙眼果实呼吸作用和细胞膜透性的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(2): 191–196.
- LIN Y X, LIN Y F, CHEN L, et al. Effects of uncouple agent 2,4-dinitrophenol (DNP) treatment on respiration and cellular membrane permeability in harvested longan fruit[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(2): 191–196.
- [25] CHEN H Y, ZHOU S Q, LI X, et al. Exogenous progesterone alleviates chilling injury by upregulating IbAOX1 to mediate redox homeostasis and proline accumulation in postharvest sweetpotato tuberous root [J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 183: 111738.
- [26] LIU T, HAN Y Q, SHI J L, et al. Abscisic acid involved in trehalose improved melon photosynthesis via regulating oxidative stress tolerance and cell morphology structure under cold stress[J]. Environmental and Experimental Botany, 2022, 202: 105042.
- [27] LI M, ZHAO W L, DU Q J, et al. Abscisic acid and hydrogen peroxide regulate proline homeostasis in melon seedlings under cold stress by forming a bidirectional closed loop[J]. Environmental and Experimental Botany, 2023, 205: 105102.
- [28] WEI T L, WANG Z X, HE Y F, et al. Proline synthesis and catabolism-related genes synergistically regulate proline accumulation in response to abiotic stresses in grapevines [J]. Scientia Horticulturae, 2022, 305: 111373.
- [29] BHARDWAJ R, PAREEK S, GONZÁLEZ – AGUILAR G A, et al. Changes in the activity of proline-metabolising enzymes is associated with increased cultivar-dependent chilling tolerance in mangos, in response to pre-storage melatonin application[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 182: 111702.
- [30] TARTOURA K A H, YOUSSEF S A. Stimulation of ROS-scavenging systems in squash (*Cucurbita pepo* L.) plants by compost supplementation under normal and low temperature conditions[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130(4): 862–868.
- [31] WANG F, YANG Q Z, ZHAO Q F, et al. Cold shock treatment with oxalic acid could alleviate chilling injury in green bell pepper by enhancing antioxidant enzyme activity and regulating proline metabolism [J]. Scientia Horticulturae, 2022, 295: 110783.
- [32] 严锐, 韩延超, 吴伟杰, 等. 水杨酸处理对鲜莲采后品质及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国食品学报, 2022, 22(3): 235–245.
- YAN R, HAN Y C, WU W J, et al. Effect of salicylic acid treatment on the postharvest quality and antioxidant enzyme activity of fresh lotus [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(3): 235–245.
- [33] 闫梅, 姚彦东, 牟开萍, 等. 脱落酸通过提高抗氧化酶活性与基因表达参与富氨水增强番茄幼苗抗旱性[J]. 浙江农业学报, 2022, 34(9): 1901–1910.
- YAN M, YAO Y D, MOU K P, et al. Involvement of abscisic acid in hydrogen gas-enhanced drought resistance by improving antioxidant enzyme activity and gene expression in tomato seedlings[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2022, 34(9): 1901–1910.
- [34] 李婧, 刘星星, 吴玉环, 等. 外源脱落酸对铝胁迫下栝楼叶绿素荧光及生理活性的影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31(2): 293–300.
- LI J, LIU X X, WU Y H, et al. Effect of exogenous abscisic acid on chlorophyll fluorescence and physiological activity of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. under aluminum stress[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2017, 31(2): 293–300.
- [35] 何昊. 脱落酸对葡萄抗逆性和果实品质的影响研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.

HE H. Study on effects of ABA on stress resistance and fruit quality of grape[D]. Ya'an: Sichuan Agri-

cultural University, 2013.

### Effect of Exogenous Abscisic Acid on Physiological Response of Blueberries to Low Temperature Stress during Postharvest

Fang Xiangjun<sup>1,2</sup>, Wu Weijie<sup>2</sup>, Mu Honglei<sup>2</sup>, Chen Hangjun<sup>2</sup>, Zheng Xiaolin<sup>\*</sup>, Gao Haiyan<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018

<sup>2</sup>Food Science Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Post-Harvest Handling of Fruits, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Fruits and Vegetables Postharvest and Processing Technology Research of Zhejiang Province, Key Laboratory of Postharvest Preservation and Processing of Fruits and Vegetables, China National Light Industry, Hangzhou 310021)

**Abstract** In order to explore the effect of abscisic acid treatment on blueberry fruit during storage at low temperature stress, the Garden Blue blueberry were sprayed with 400, 600  $\mu\text{mol/L}$  and 800  $\mu\text{mol/L}$  abscisic acid solution, respectively. Firmness, total soluble solids content, membrane permeability, osmotic regulation substances, antioxidant substances content, antioxidant enzyme activity and other related physiological indexes were determined and principal component analysis and correlation analysis were carried out. The results showed that treated with 600  $\mu\text{mol/L}$  abscisic acid then storage for 35 days, the firmness of blueberries decreased to 87.8% of the control group, and the soluble solids increased to 103.2% of the control group. The relative conductivity was 5.05% lower than that of the control group, and the content of MDA was 90.7% lower than that of the control group. The content of proline and soluble protein increased by 1.16 and 1.4 times respectively compared to the control group. The activities of SOD, CAT and APX were 1.51, 1.26 and 1.18 times higher than those of the control group, and the contents of anthocyanin and AsA were 1.72 and 1.34 times higher than those of the control group. Maintaining high antioxidant enzyme activity and antioxidant content improves the cold resistance of blueberry fruit and helps to maintain the quality of blueberry fruit. Principal component analysis and correlation analysis showed that relative conductivity (REC), malondialdehyde (MDA), proline(Pro), and superoxide anion ( $\text{O}_2^-$ ) were closely related to the cold resistance of blueberry fruit, and could be used as indicators to evaluate the cold resistance.

**Keywords** blueberry fruit; abscisic acid; cold tolerance; physiological response