



不同发育期小黄椰胚乳抗氧化酶活性变化规律

李 静^{1,2}, 陈惠慧^{1,3}, 吴 翼¹, 杨耀东¹, 范海阔¹, 弓淑芳¹, 刘 蕊¹, 王仁才^{2*}

(¹中国热带农业科学院椰子研究所/海南省热带油料作物生物学重点实验室, 海南文昌 571339;

²湖南农业大学园艺园林学院, 长沙 410000; ³海南省师范大学生命科学学院, 海口 570100)

摘要:【目的】研究小黄椰果实发育过程中椰子胚乳的抗氧化能力,为鲜食或加工用椰子果实的筛选提供理论参考。【方法】在小黄椰果实发育过程中取不同发育期椰子胚乳,分别测定椰子胚乳中的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)活性及过氧化氢(H₂O₂)和可溶性蛋白含量,分析各指标的变化规律,评价不同成熟度椰子胚乳的抗氧化活性。【结果】液体胚乳的CAT、GR活性和H₂O₂含量高于固体胚乳,而SOD活性及可溶性蛋白含量低于固体胚乳。果实发育前期,固体胚乳的POD活性高于液体胚乳,而果实发育后期液体胚乳的POD活性高于固体胚乳。不同发育期中11月龄固体胚乳的SOD活性最强,为47.75 U/mgFW;而10月龄液体胚乳的POD活性最强,为8.41 U/mg;椰子胚乳中GR活力较低,最高仅为4.64 U/g,远低于的SOD、POD和CAT活性;6月龄液体胚乳的CAT活性最高,为8.75 U/mg。各抗氧化酶活性的相关性分析结果表明,椰子胚乳CAT活性与H₂O₂含量呈极显著正相关($P<0.01$,下同),GR活性与可溶性蛋白含量呈显著负相关($P<0.05$,下同);其中,液体胚乳的CAT活性与可溶性蛋白含量呈显著负相关,固体胚乳的CAT活性与GR活性呈显著正相关。【结论】椰子果实发育前期液体胚乳中的抗氧化酶起关键作用,在果实发育后期则固体胚乳的抗氧化酶逐渐起主导作用。因此,鲜食椰子可选择9月龄前的果实较好,而加工用椰子宜选择9月龄后的椰子果实。

关键词: 小黄椰子; 胚乳; 抗氧化酶; 过氧化氢(H₂O₂); 可溶性蛋白

中图分类号: S667.401

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2020)01-0140-07

Changes of antioxidant enzyme activities in endosperm of small yellow coconut at different developmental stages

LI Jing^{1,2}, CHEN Hui-hui^{1,3}, WU Yi¹, YANG Yao-dong¹, FAN Hai-kuo¹,
GONG Shu-fang¹, LIU Rui¹, WANG Ren-cai^{2*}

(¹Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Hainan Key Laboratory of Tropical Oil Crops Biology, Wenchang, Hainan 571339, China; ²Horticulture & Landscape College, Hunan Agriculture University, Changsha 410000, China; ³College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou 570100, China)

Abstract: 【Objective】To study the antioxidant capacity of coconut endosperm during the development of small yellow coconuts, and to provide a theoretical reference for the screening of fresh or processed coconut fruits. 【Method】During the development of small yellow coconut fruit, coconut endosperm at different developmental stages were taken, and the superoxide dismutase (SOD) activity and peroxidase (POD) activity, catalase (CAT) activity, glutathione reductase (GR) activity, hydrogen peroxide (H₂O₂) content and soluble protein content in coconut endosperm were measured respectively, analysis of the changes in each index and evaluation of the coconut endosperm antioxidant activity at different maturity levels were conducted. 【Result】The activities of CAT activity, GR activity and H₂O₂ in liquid endosperm were higher than those in solid endosperm, while the SOD activity and soluble protein content were lower than those in solid endosperm. In the early stage of fruit development, the POD activity of solid endosperm was higher than that of liquid endosperm, while in the later stage of fruit development, the POD activity of liquid endosperm was higher than that of solid endosperm. The SOD activity of 11-month-old solid endosperm was the strongest at different developmental stages, which was 47.75 U/mgFW. The 10-month-old liquid endosperm had the strongest POD activity, at 8.41 U/mg; the GR activity in coconut endosperm was low, the highest one was only 4.64 U/g, which was far lower than the SOD, POD and CAT activities. The 6-month-old liquid endosperm had the highest CAT activity at 8.75 U/mg. The correlation analysis among various antioxidant enzymes activities showed that, there was extremely significant positive correlation between CAT activity and H₂O₂ content of coconut endosperm ($P<0.01$, the same below), and there was significantly negative cor-

收稿日期: 2019-04-29

基金项目: 海南省自然科学基金项目(318QN274); 农业农村部农业国际交流与合作项目(BARTP-06-WFY)

作者简介: *为通讯作者, 王仁才(1962-), 博士, 研究员, 主要从事猕猴桃采后保鲜研究工作, E-mail: 409600160@qq.com。李静(1981-), 主要从事椰子遗传育种研究工作, E-mail: jinghui11111@163.com

relation between GR activity and soluble protein content ($P < 0.05$, the same below). In liquid endosperm, the CAT activity had significant negative correlation with soluble protein content, and in solid endosperm, CAT activity had significant positive correlation with GR activity. 【Conclusion】The antioxidant enzymes in the liquid endosperm play a key role in the early stage of coconut fruit development, and the antioxidant enzymes in the solid endosperm gradually play a leading role in the later stage of fruit development. Therefore, it is better to choose the fruit before 9 months of age for fresh coconut, and the coconut fruit after 9 months of age for processing coconut.

Key words: small yellow coconut; endosperm; antioxidant enzyme; hydrogen peroxide (H_2O_2); soluble protein

Foundation item: Hainan Natural Science Foundation (318QN274); International Exchange and Cooperation Project of Ministry of Agriculture and Rural Affairs (BARTP-06-WFY)

0 引言

【研究意义】椰子 (*Cocos nucifera* L.) 隶属于棕榈科椰子属, 被称为“生命之树” (Famurewa et al., 2017; Roger et al., 2018), 其可加工成椰子油、椰子汁、椰子糖、椰子粉、椰雕工艺品及椰棕垫等, 给热区人民带来很大的经济利益 (Perera et al., 2007)。椰子的可食部分是其胚乳, 椰子水是液体胚乳, 椰肉是固体胚乳。不论鲜食还是加工, 椰子胚乳的抗氧化活性均为一个重要指标, 但椰子胚乳封闭于坚实的椰壳中, 目前针对其有氧代谢过程及抗氧化研究较薄弱。因此, 研究椰子胚乳抗氧化活性对了解椰子胚乳生长发育及果实健康食用均具有重要意义。【前人研究进展】植物在自身有氧代谢过程中积累的大量超氧阴离子及单线态氧等有毒物质会影响其生长发育 (李合生, 2002), 但在漫长的演化过程中又产生了能调控活性氧水平的代谢途径 (王鑫, 2014), 如超氧化物歧化酶 (SOD) 可解除超氧根阴离子造成的氧化胁迫 (Karpinska et al., 2001), 过氧化物酶 (POD) 具有控制植物逆境胁迫下细胞氧化还原平衡及参与延缓植物成熟衰老、生长素降解等功能 (Hu et al., 2016)。在植物细胞中, 谷胱甘肽还原酶 (GR) 主要存在于叶绿体基质中, 植物遭受逆境胁迫时使用外源过氧化氢 (H_2O_2) 处理一些植物的种子可有效提高其耐盐性 (de Azevedo Neto et al., 2005; Wahid et al., 2007)。在椰子果实发育过程中其胚乳内抗氧化酶也发生明显变化。郑亚军和陈卫军 (2009) 研究发现天然椰子水对超氧阴离子自由基有较强的清除作用。张观飞等 (2017) 分析发酵对椰子水抗氧化活性的影响, 结果表明低纯度椰子水的抗氧化活性有明显改善。目前, 针对新鲜椰肉的抗氧化酶活性研究报道较少, 而有关其成分研究也主要集中在椰子油 (主要为脂肪酸) 的抗氧化活性评价方面。Nevin和Rajamohan (2006) 通过给小鼠灌胃原生态椰子油 (VCO)、椰子油和花生油, 结果发现VCO具有较强的抗氧化活性。Nagaraju和Belur (2008) 把椰子油、花生油和橄榄油混合灌胃小鼠, 结果发现小鼠肝脏

中SOD、CAT、谷胱甘肽转移酶 (GST) 等酶的活性明显提高。郑亚军等 (2010) 也研究证实VCO具有较强的DPPH清除能力。因此, 研究液体胚乳和固体胚乳中抗氧化酶活性, 尤其是不同成熟度椰子胚乳的抗氧化酶活性, 不仅有助于了解椰子在遭受环境胁迫时抗氧化活性酶变化规律, 还能为椰肉加工的品种筛选提供参考。【本研究切入点】目前, 国内外鲜见针对椰子果实发育过程中抗氧化酶活性的研究报道。【拟解决的关键问题】通过测定分析小黄椰不同发育时期液体胚乳和固体胚乳的抗氧化酶 (SOD、POD、CAT和GR等) 活性, 掌握小黄椰胚乳的抗氧化酶变化规律, 为椰子抗氧化研究及鲜食或加工用椰子果实的筛选提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试椰子品种为小黄椰, 取自中国热带农业科学院椰子研究所椰子种质资源圃。椰子在授粉后5~6个月开始形成固体胚乳, 为了更具代表性, 取样时选择5株结果稳定的成年小黄椰子树为研究对象, 对每株椰树上的花序从开花时进行标记, 并在花后6个月 (2018年6月) 开始取样, 分别取花后6月龄 (6M)、花后7月龄 (7M)、花后8月龄 (8M)、花后9月龄 (9M)、花后10月龄 (10M) 和花后11月龄 (11M) 的椰子果实。6M和7M两个时期的椰子肉含量较少, 因此采样时每次取5个椰果为材料, 而其余时期各取3个椰果作为生理性重复。主要试剂: 磷酸二氢钾 (广州化学试剂公司), 磷酸二氢钠 (广州化学试剂公司); SOD、POD、CAT、GR和 H_2O_2 等试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。主要仪器设备: 高速离心机 (Eppendorf 5801R型, 德国艾本德公司)、恒温水浴锅 (上海一恒科学仪器有限公司) 和紫外分光光度计 (日本岛津公司)。

1.2 试验方法

剖开椰子果后分别取100.0 mL液体胚乳及不同部位的固体胚乳混合后作为试验材料, 液氮速冻后置于超低温冰箱保存备用。由于1.0 mL液体胚乳的

重量为1.0 g,为统一计算单位,因此在提取各活性酶时分别取1.0 mL液体胚乳和1.0 g固体胚乳,在换算酶活性时均以重量计算后再比较酶活性差异。

1.2.1 胚乳SOD和POD活性测定 称取1.0 g固体胚乳,用0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.1)按重量(g):体积(mL)=1:9的比例提取,液体胚乳按体积(mL):体积(mL)=1:9的比例在冰浴条件下提取,3500 r/min离心10 min后分别取35 μL液体胚乳提取上清液、20 μL固体胚乳提取上清液,按照操作说明测定SOD活性。各取上述液体胚乳和固体胚乳的上清液100 μL,按照POD试剂盒操作说明测定POD活性。

1.2.2 胚乳可溶性蛋白含量测定 取1.0 g固体胚乳,用5%生理盐水按重量(g):体积(mL)=1:9的比例,液体胚乳按照体积(mL):体积(mL)=1:9的比例在冰浴条件下提取可溶性蛋白,3500 r/min离心10 min后取50 μL上清液,根据操作说明测定椰子胚乳的可溶性蛋白含量。

1.2.3 胚乳GR活性测定 提取方法与SOD提取方法相同。10000 r/min离心10 min后分别吸取20 μL椰子胚乳提取上清液,按照操作说明测定GR活性。

1.2.4 胚乳CAT活性和H₂O₂含量测定 提取方法与SOD提取方法相同。10000 r/min离心10 min后分别取50和100 μL上清液,按照操作说明测定椰子胚乳的CAT活性和H₂O₂含量。

1.5 统计分析

试验数据采用SAS 9.1进行数理统计,并以Duncan's新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 小黄椰发育过程中果实的变化情况

由表1可知,在小黄椰子果实发育过程中,椰果各部位随着果实的成熟呈现一定变化规律,其果肉厚度逐渐增加,椰子水含量逐渐减少,椰子果实重量逐渐减轻。椰子果实大小(纵径和横径)变化差异不显著($P>0.05$,下同),因为从6M开始椰子果实已基

本发育完成,不会随着植株发育而明显变大。椰子在6M时其果实厚度平均仅0.1 cm,此时椰肉无法完全覆盖椰壳内部,在随后的发育过程中椰肉逐渐覆盖整个椰壳,椰肉也逐渐增厚,至果实成熟时(10M和11M)椰肉厚度达1.1 cm,此时与其余各时期的椰肉厚度存在显著差异($P<0.05$,下同)。椰子水随着果实的成熟逐渐减少,即从6M时的367 mL下降到成熟时(11M)的205 mL,椰子水从充满整个椰腔变成仅占椰腔的一部分。6M和7M时的椰子水含量差异不显著,但从9M开始椰子水含量显著降低。由此可见,在椰子果实发育至逐渐成熟的过程中,椰子水与椰肉间密切关联,其物质之间存在相互转化的关系。

2.2 椰子果实发育过程中胚乳SOD的活性变化

由图1可知,不同发育期液体胚乳的SOD活性均明显低于固体胚乳。其中,液体胚乳的SOD活性随着果实的成熟整体上呈逐渐下降趋势,在6M时最强,为11.02 U/mgFW,而后下降,至成熟时(10M~11M)为8.20 U/mgFW;液体胚乳在6M~9M时的SOD活性差异不显著,从10M时开始差异显著。而固体胚乳的SOD活性呈两头高中间低的变化趋势,6M的较高,可达44.26 U/mgFW,在7M时有所下降,8M时有所回升,而后又下降,至10M达最低值,为30.57 U/mgFW,随后又升高;至11M时SOD活性最强,为47.75 U/mgFW,与7M~10M时固体胚乳中SOD活性差异显著。可见,在整个椰子果实发育期,固体胚乳的SOD起主导作用。

2.3 椰子果实发育过程中胚乳POD的活性变化

从图2可看出,随着果实的发育,液体胚乳的POD活性呈先升高后下降的变化趋势,在10M时达最高值,为8.41 U/mg,与其他发育时期液体胚乳的POD活性存在显著差异;6M时液体胚乳POD活性最低,仅为3.03 U/mg。果实发育前期(6M~8M),固体胚乳的POD活性高于液体胚乳,果实发育后期(9M~11M)固体胚乳的POD活性低于液体胚乳;花后9M时固体胚乳POD活性最强,为5.60 U/mg,但与6M、8M和10M时固体胚乳POD活性差异均不显著。

表 1 小黄椰发育过程中果实的变化情况

Table 1 Fruit changes during the development of yellow coconut

椰果部位 Part of coconut	发育时期 Development period					
	6M	7M	8M	9M	10M	11M
果实纵径(cm) Longitudinal diameter	16.1±0.4b	16.6±0.2ab	16.9±0.2a	16.5±0.4ab	17.0±0.4a	17.1±0.4a
果实横径(cm) Transverse diameter	14.2±0.5	13.7±0.8	13.9±0.6	13.7±0.2	14.1±0.3	14.0±0.4
果肉厚度(cm) Pulp thickness	0.1±0.0e	0.3±0.1d	0.5±0.0c	0.8±0.0b	1.1±0.1a	1.1±0.0a
果实重量(kg) Fruit weight	1.2±0.2b	1.3±0.1a	1.02±0.0cd	0.8±0.1d	0.7±0.1e	0.64±0.0e
椰子水含量(mL) Coconut water content	367±19a	352±20a	326±26ab	294±15bc	263±12c	205±15d

同行数据后不同小写字母表示不同发育时期间差异显著($P<0.05$)

Different lowercase letters in the same row indicated significant difference between different developmental stages($P<0.05$)

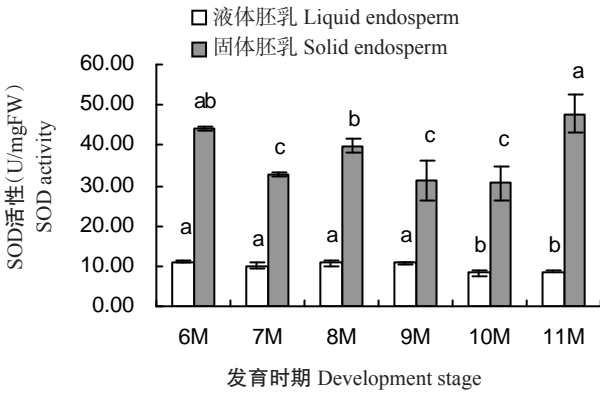


图1 椰子果实发育过程中胚乳SOD活性的变化
Fig.1 Changes of SOD activity in endosperm of coconut at different developmental stages

同一指标图柱上不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。图2~图6同

Different lowercase letters on the bar for the same index represented significant difference between treatments ($P<0.05$). The same was applied in Fig.2-Fig.6

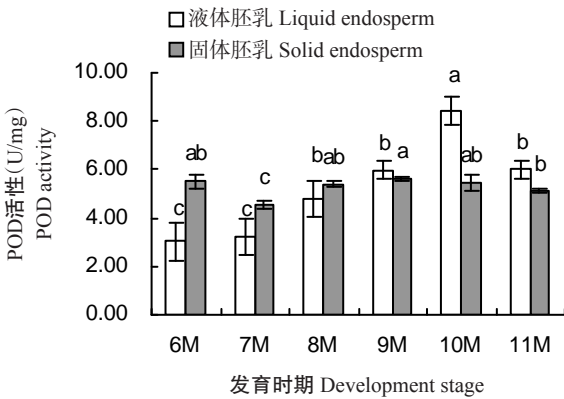


图2 椰子果实发育过程中胚乳POD活性的变化
Fig.2 Changes of POD activity in endosperm of coconut at different developmental stages

可见,果实发育前期(6M~8M)固体胚乳的POD活性起主导作用,而果实发育后期(9M~11M)液体胚乳的POD起主导作用。

2.4 椰子果实发育过程中胚乳CAT的活性变化

从图3可知,不同发育期液体胚乳的CAT活性均明显高于固体胚乳,其中6M时的差异最明显,各发育期固体胚乳的CAT活性是液体胚乳的1/4~1/2。液体胚乳中的CAT活性随果实成熟呈先下降后上升再下降的变化趋势,在6M时CAT活性最强,为8.75 U/g,与其他月龄液体胚乳的CAT活性呈显著差异,最低值为9M时的2.14 U/g。固体胚乳中的CAT活性随果实成熟整体上呈逐渐下降趋势,在6M时CAT活性最强,为2.01 U/g,约是同期液体胚乳的1/4,与其他月龄的固体胚乳呈显著差异,至11M时达最低值,仅为0.67 U/g。

2.5 椰子果实发育过程中胚乳GR的活性变化

从图4可知,不同发育期果实液体胚乳的GR活

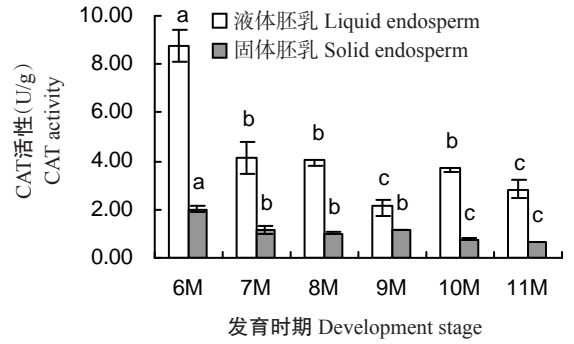


图3 椰子果实发育过程中胚乳CAT活性的变化
Fig.3 Changes of CAT activity in endosperm of coconut at different developmental stages

性均明显高于固体胚乳。其中,液体胚乳的GR活性随果实成熟呈先下降后上升再下降的变化趋势,至9M时达最低值(1.63 U/g),而到10M果实成熟时又有所升高,11M时再下降,在6M时其活性最强,为4.64 U/g,与其他月龄液体胚乳的GR活性呈显著差异。固体胚乳的GR活性随果实成熟基本上呈逐渐下降趋势,其中在6M时最强,但相比液体胚乳的GR活性仍然很低,仅为0.31 U/g,为同时期液体胚乳GR活性的6%;而在椰子果实成熟(11M)时,固体胚乳GR活性达最低值(0.08 U/g)。

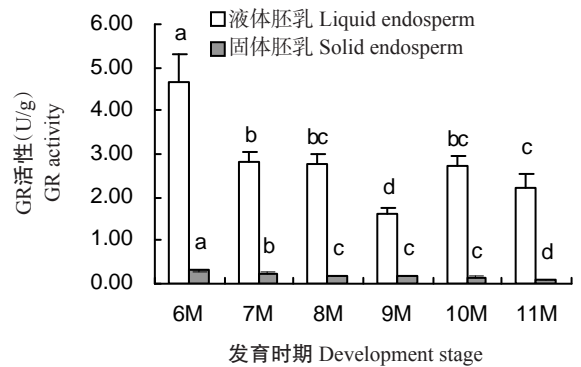


图4 椰子果实发育过程中胚乳GR活性的变化
Fig.4 Changes of GR activity in endosperm of coconut at different developmental stages

2.6 椰子果实发育过程中胚乳可溶性蛋白的含量变化

从图5可知,果实不同发育期固体胚乳的可溶性蛋白含量均明显高于液体胚乳。其中,固体胚乳中的可溶性蛋白含量随果实成熟呈逐渐升高趋势,在11M时最高,为10.37 g/L,与其他月龄固体胚乳可溶性蛋白含量呈显著差异,最低值出现在7M时,为3.33 g/L;液体胚乳中的可溶性蛋白含量最高值出现在花后9M时,仅为0.53 g/L,6M时最低,0.11 g/L。可见,整个椰子果实发育期固体胚乳的可溶性蛋白起主导作用。

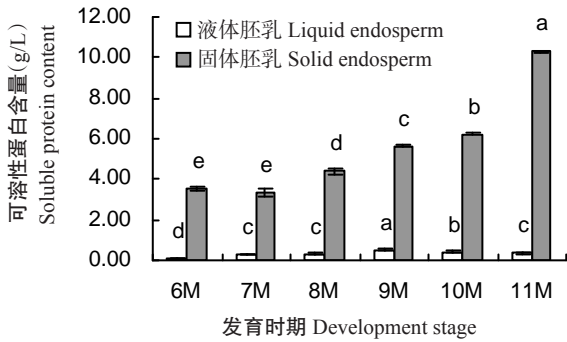


图5 椰子果实发育过程中胚乳可溶性蛋白含量的变化
Fig.5 Changes of soluble protein content in endosperm of coconut at different developmental stages

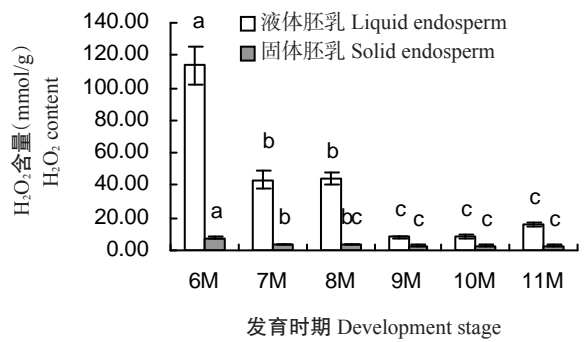


图6 椰子果实发育过程中胚乳H₂O₂含量的变化
Fig.6 Changes of H₂O₂ content in endosperm of coconut at different developmental stages

2.7 椰子果实发育过程中胚乳H₂O₂的含量变化

从图6可知，液体胚乳的H₂O₂含量呈先大幅下降后有所上升的变化趋势，最大值出现在花后6M时，达113.79 mmol/g，与其他月龄液体胚乳H₂O₂含量呈显著差异，在花后9M时达最低值(8.23 mmol/g)；固体胚乳的H₂O₂含量呈逐渐下降趋势，最大值出现在花后6M，为7.47 mmol/g，在成熟时(11M)达最低值(2.89 mmol/g)，均远低于液体胚乳，其最大值仅为液体胚乳H₂O₂含量最大值的1/16。说明在椰子胚乳中液体胚乳H₂O₂起主导作用。

2.8 椰子果实发育过程中各抗氧化酶活性的相关性分析结果

由表2可看出，液体胚乳中CAT活性与GR活性和H₂O₂含量均呈极显著正相关(P<0.01，下同)，相关系数分别为0.99和0.96；CAT和GR活性均与可溶性蛋白含量呈显著负相关，相关系数分别为-0.90和

-0.92，H₂O₂含量与可溶性蛋白含量呈极显著负相关，相关系数为-0.93；GR活性与H₂O₂含量呈极显著正相关，相关系数为0.93。由表3可看出，固体胚乳中CAT活性与GR活性、H₂O₂含量分别呈显著和极显著正相关，相关系数分别是0.91和0.94；GR活性与可溶性蛋白含量呈显著负相关，相关系数为-0.87。

3 讨论

本研究检测了SOD、POD、CAT和GR等抗氧化酶活性，发现只有SOD活性是固体胚乳高于液体胚乳，其余3种抗氧化酶活性均表现为液体胚乳高于固体胚乳。究其原因可能是液体胚乳的抗氧化酶活性影响着固体胚乳的抗氧化酶活性，即在椰子果实发育前期液体胚乳中的抗氧化活性酶起关键作用，而在果实发育后期固体胚乳中的抗氧化酶也参与到椰子的抗氧化代谢中。该结论也符合椰子果实成熟

表2 液体胚乳中各抗氧化酶活性的相关性

Table 2 The correlation of antioxidant enzymes in coconut water endosperm

指标 Index	SOD活性 SOD activity	POD活性 POD activity	CAT活性 CAT activity	GR活性 GR activity	可溶性蛋白含量 Soluble protein content	H ₂ O ₂ 含量 H ₂ O ₂ content
SOD活性 SOD activity	1.00	-0.72	0.42	0.33	-0.36	0.59
POD活性 POD activity		1.00	-0.60	-0.56	0.75	-0.78
CAT活性 CAT activity			1.00	0.99**	-0.90*	0.96**
GR活性 GR activity				1.00	-0.92*	0.93**
可溶性蛋白含量 Soluble protein content					1.00	-0.93**
H ₂ O ₂ 含量 H ₂ O ₂ content						1.00

*和**分别表示显著(P<0.05)或极显著(P<0.01)相关。表3同

* represented significant correlation(P<0.05), and ** represented extremely significant correlation(P<0.01). The same was applied in Table 3

表3 固体胚乳中各抗氧化酶活性的相关性

Table 3 The correlation of antioxidant enzymes in coconut meat endosperm

指标 Index	SOD活性 SOD activity	POD活性 POD activity	CAT活性 CAT activity	GR活性 GR activity	可溶性蛋白含量 Soluble protein content	H ₂ O ₂ 含量 H ₂ O ₂ content
SOD活性 SOD activity	1.00	0.05	0.19	-0.13	0.41	0.38
POD活性 POD activity		1.00	0.20	-0.07	0.09	0.18
CAT活性 CAT activity			1.00	0.91*	-0.67	0.94**
GR活性 GR activity				1.00	-0.87*	0.81
可溶性蛋白含量 Soluble protein content					1.00	-0.51
H ₂ O ₂ 含量 H ₂ O ₂ content						1.00

过程中,液体胚乳逐渐减少而固体胚乳逐渐增厚,两者间存在可溶性糖及脂肪酸等的物质转换过程的自然生长规律(Li et al.,2019)。

本研究发现在椰子胚乳中GR活性较低,且固体胚乳的GR活性较液体胚乳更低,最高仅为0.31 U/g。可能与GR主要存在于植物叶绿体基质中,而椰子果实胚乳不含叶绿体,因此其含量较低;此外,固体胚乳是由液体胚乳经物质能量转化而来,故液体胚乳GR活性高于固体胚乳。可溶性蛋白质是重要的渗透调节物质和营养物质,其增加和积累能提高细胞的保水能力,可对细胞的生命物质及生物膜起保护作用。因此,可溶性蛋白含量是衡量植物生长发育状况的一个重要生理生化指标,与植物的生长发育、成熟衰老及抗逆性等密切相关(邓丽莉等,2012;Yu et al.,2013)。固体胚乳的可溶性蛋白含量较高,在11M时达最高值,为10.37 g/L,而液体胚乳的可溶性蛋白含量很低,进一步验证固体胚乳是由液体胚乳提供能量物质逐渐转化而来,且可溶性蛋白参与这一转化过程。柳永强等(2012)研究表明外源H₂O₂可缓解盐碱土壤对马铃薯的生长发育的抑制。徐芬芬等(2017)研究发现添加低浓度的H₂O₂(5~100 μmol/L)可促进盐胁迫下水稻幼苗根系生长、根毛分化,而根系SOD、POD和CAT活性增强,脯氨酸含量增加,MDA含量降低,增强水稻的抗盐性。目前,虽没有关于椰子添加外源H₂O₂以调节其在盐碱地生长的研究报告,但椰子生长在海边等盐碱地,苗期可借鉴草本植物的方法适当添加H₂O₂,以促进椰子苗根系的生长,增加椰子树体抗盐碱能力,但添加的浓度有待进一步研究。

影响各抗氧化酶活性的因素有很多,酶与酶之间的关系也很复杂(唐功,2010)。陈瑶(2011)研究分析盐碱胁迫下杨树叶片MDA含量与各抗氧化酶的相关性,结果发现MDA含量与SOD、POD、CAT的活性无关,在各抗氧化酶中,CAT和POD及SOD活性间存在线性关系。本研究发现椰子果实胚乳的各抗氧化酶间也存在着一定的相关性。其中椰子果实胚乳的CAT活性与GR活性和H₂O₂含量均呈显著正相关,与陈瑶(2011)的研究结果不同,可能与椰子生长的环境不同有关。本研究中,椰子果实胚乳的GR活性与可溶性蛋白含量呈显著负相关,液体胚乳的CAT活性与可溶性蛋白含量呈显著负相关,固体胚乳的CAT活性分别与GR活性、H₂O₂含量呈显著或极显著正相关。推测这些指标在椰子胚乳抗氧化系统中存在一定的关联性,尤其在逆境等胁迫下彼此间相互

协调作用,调控椰子正常生长发育,但各抗氧化酶间的互作机理还需进一步验证。

4 结论

不同成熟期椰子的胚乳抗氧化活性不同,液体胚乳和固体胚乳的抗氧化活性也不同。椰子果实发育前期液体胚乳中的抗氧化酶起关键作用,在果实发育后期则固体胚乳的抗氧化酶逐渐起主导作用。因此,鲜食椰子可选择9月龄前的果实较好,而加工用椰子宜选择9月龄后的椰子果实。

参考文献:

- 陈瑶. 2011. 盐碱胁迫下杨树叶片MDA含量与各抗氧化酶的相关性[J]. 光谱实验室,28(4): 1675-1679. [Chen Y. 2011. Relations between MDA and antioxidant enzymes of poplar leaf under salt-alkali stresses[J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 28(4): 1675-1679.]
- 邓丽莉,潘晓倩,生吉萍,申琳. 2012. 考马斯亮蓝法测定苹果组织微量可溶性蛋白含量的条件优化[J]. 食品科学, 33(24): 185-189. [Deng L L, Pan X Q, Sheng J P, Shen L. 2012. Optimization of experimental conditions for the determination of water soluble protein in apple pulp using coomassie brilliant blue method[J]. Food science, 33(24): 185-189.]
- 李合生. 2002. 现代植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社: 415-419. [Li H S. 2002. Modern plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press:415-419.]
- 柳永强,杨谋,马廷蕊,张勇. 2012. 外源NO和H₂O₂诱导马铃薯对盐碱土壤的适应[J]. 土壤学报,43(6): 1380-1384. [Liu Y Q, Yang M, Ma T R, Zhang Y. 2012. Exogenous NO and H₂O₂ induced potato adaption to saline-alkali soil [J]. Chinese Journal of Soil Science,43(6):1380-1384.]
- 唐功. 2010. 活性氧、抗氧化酶以及抗氧化剂之间关系的探讨[J]. 安徽农业科学,38(33): 18619-18621. [Tang G. 2010. The discuss on the relationship among reactive oxygen species, antioxidant enzymes and antioxidants[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,38(33): 18619-18621.]
- 王鑫. 2014. 日本落叶松谷胱甘肽还原酶生化特性研究[D]. 北京:中国科学院大学. [Wang X. 2014. Biochemical characteristics of *Larix kaempferi* glutathione reductase [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences.]
- 徐芬芬,徐鹏,胡志涛,夏晓蕾. 2017. 外源过氧化氢对盐胁迫下水稻幼苗根系生长和抗氧化系统的影响[J]. 杂交水稻, 32(1): 74-77. [Xu F F, Xu P, Hu Z T, Xia X L. 2017. Effects of exogenous hydrogen peroxide on root growth and antioxidant system of rice seedlings under salt stress[J]. Hybrid Rice, 32(1):74-77.]
- 张观飞,何静如,陈卫军,陈文学,马超,刘雪,陈海明. 2017. 低醇度椰子水成分和抗氧化活性研究[J]. 中国酿造,36(8): 144-148. [Zhang G F, He J R, Chen W J, Chen W X, Ma C, Liu X, Chen H M. 2017. Components and

- antioxidant activity of coconut drink with low-alcohol content[J]. *China Brewing*, 36(8): 144-148.]
- 郑亚军,陈卫军. 2009. 天然椰子水的抗氧化活性[J]. *热带作物学报*, 30(2): 230-233. [Zheng Y J, Chen W J. 2009. Antioxidative activities of natural coconut water[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 30(2): 230-233.]
- 郑亚军,李艳,陈卫军,赵松林,马子龙. 2010. 超临界CO₂萃取原生态椰子油工艺及其抗氧化性的研究[J]. *中国粮油学报*, 25(6): 66-70. [Zheng Y J, Li Y, Chen W J, Zhao S L, Ma Z L. 2010. Supercritical CO₂ extraction and antioxidation of virgin coconut oil[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 25(6): 66-70.]
- de Azevedo Neto A D, Prisco J T, Enéas-Filho J, Medeiros J V R, Gomes-Filho E. 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces stress acclimation in maize plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 162(10): 1114-1122.
- Famurewa A C, Aja P M, Maduagwuna E K, Ekeleme-Egedigwe C A, Ufebe O G, Azubuiké-Osu S O. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory effects of virgin coconut oil supplementation abrogate acute chemotherapy oxidative nephrotoxicity induced by anticancer drug methotrexate in rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96: 905-911.
- Hu L F, Yang Y G, Jiang L W, Liu S Q. 2016. The catalase gene family in cucumber: Genome-wide identification and organization[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 39(3): 408-415.
- Karpinska B, Karlsson M, Schinkel H, Streller S, Süß K H, Melzer M, Wingsle G. 2001. A novel superoxide dismutase with a high isoelectric point in higher plants. Expression, regulation and protein localization[J]. *Plant Physiology*, 126(4): 1668-1677.
- Li J, Htwe Y M, Wang Y, Yang Y D, Wu Y, Li D X, Kareem A, Wang R C. 2019. Analysis of sugars and fatty acids during haustorium development and seedling growth of coconut[J]. *Agronomy Journal*, 111(5): 1-9.
- Nagaraju A, Belur L R. 2008. Rats fed blended oils containing coconut oil with groundnut oil or olive oil showed an enhanced activity of hepatic antioxidant enzymes and a reduction in LDL oxidation[J]. *Food Chemistry*, 108(3): 950-957.
- Nevin K G, Rajamohan T. 2006. Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats[J]. *Food Chemistry*, 99(2): 260-266.
- Perera P I P, Hochev V, Verdeil J L, Yakandawala D M D, Weerakoon L K. 2007. Recent advances in anther culture of coconut (*Cocos nucifera* L.) [C]//Biotechnology and Sustainable Agriculture 2006 and Beyond: Proceedings of the 11th IAPTC&B Congress, Beijing, Spring:451-455.
- Roger K B, Martial A P, Clement Y B Y, Georges A N'. 2018. Variation of soluble sugar and minerals contents of kernels from germinated nuts of several coconut cultivars (*Cocos nucifera* L.)[J]. *Journal of Experimental Agriculture International*, 22(4): 1-9.
- Wahid A, Perveen M, Gelani S, Basra S M A. 2007. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins[J]. *Journal of Plant Physiology*, 164(3): 283-294.
- Yu Z T, Han C X, Wang S, Lv D W, Chen G X, Li X H, Jiang G L, Yan Y M. 2013. Fast separation and characterization of water-soluble proteins in wheat grains by reversed-phase ultra performance liquid chromatography (RP-UPLC)[J]. *Journal of Cereal Science*, 57(3): 288-294.

(责任编辑 邓慧灵)