

## 成熟和褐变荔枝果实呼吸作用和脂氧合酶活性

孙谷畴

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

S667.101

**摘要** 荔枝果实完全成熟和果皮变鲜红时, 呼吸速率降低, 仅相当于果皮带绿时的 39.4%。此时果皮和果肉的脂氧合酶活性亦明显降低, 分别相当于后者的 60.2% 和 49.1%。成熟荔枝果实果皮呼吸作用对 KCN 抑制敏感。2 mM KCN 抑制果皮总呼吸的 91.8%, 而仅抑制果肉的 56.9%。荔枝果皮呼吸的电子传递主要是通过细胞色素氧化酶途径, 而果肉则可能一半是通过其它氧化酶途径。2 mM KCN 和 1.5 mM SHAM 抑制成熟果皮总呼吸 97.9%, 为 SHAM 抑制的交替途径呼吸占总呼吸 5.28%。相同浓度 KCN 和 SHAM 抑制褐变果皮总呼吸 79.7%, 则 SHAM 抑制的交替途径呼吸占 27.1%。果实褐变时, 果皮交替途径呼吸比例增高。这一变化可能促进  $H_2O_2$  积累, 乙烯产生和果皮褐变深化。

**关键词** 荔枝果实褐变; 交替途径呼吸; 脂氧合酶

呼吸

荔枝 (*Litchi chinensis*) 是华南名贵水果。采后果皮极易变褐, 从而降低果实品质。近年来为了适应产区扩大种植和解决贮运和产销调节, 曾采用药物杀菌, 薄膜包装和低温贮藏等不同措施来贮藏荔枝果实, 以减少果皮褐变和保持果实品质<sup>[2, 4, 13]</sup>。江建平等<sup>[1]</sup>认为, 乙烯产生是诱致果皮褐变的主要原因之一。当经低温贮藏的荔枝果实移置常温下, 其呼吸和乙烯产生急剧上升, 并导致果皮变褐。荔枝果皮褐变亦可能与果肉的多酚氧化酶活性增高有关<sup>[3]</sup>。同时可能伴随着氧化和过氧化作用加剧。但果皮褐变的真正机理尚知甚少。脂氧合酶是植物组织中唯一利用分子氧氧化不饱和脂肪酸的酶。当组织衰老时, 脂氧合酶活性增高<sup>[5, 8]</sup>, 这一变化可能导致自由基积累和引起膜损伤最后导致组织损环。是否在荔枝果实贮藏和果皮褐变时亦表现脂氧合酶活性变化, 这是为人们感兴趣的问题。阐明这一问题将有助于认识荔枝褐变的机理。

## 材料和方法

“黑叶”品种的荔枝生长在本所植物园。从树上采集果皮带绿色和果皮变红的荔枝果实。成熟和果皮完全变红的果实放入塑料袋, 每袋约 1 kg, 放置室温下 3 至 5 天, 果皮逐渐变褐。取已变褐的果实 30 个, 剥取果皮和果肉, 随机取样。果皮和果肉切取小块, 在预冷后加入 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) (1:2 w/v) 和 1% PVP, 在乳钵中研磨。组织匀浆通过四层纱布过滤, 以 PR-52D 型低温离心机 1000 × g 离心 5 min, 以除去未被破碎的组织残渣。离心上清液经 15000 × g 离心 20 min, 取上清液供测定。

**脂氧合酶活性测定:** 反应介质包含 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 和 Tween-20 (1.4g/L) 分散于 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液的亚油酸缓冲液的亚油酸 5 mmol/L。以 Clark 氧电极 (Yellow Springs Inst. Co.) 在 25℃ 下测定酶活性。

**呼吸速率的测定:** 以 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 为介质, 利用 Clark 氧电极测定。

蛋白质含量测定; 按 Lowry [10] 方法测定。

## 结 果

### 一、不同成熟度荔枝果实的呼吸速率和脂氧合酶活性

果皮带绿色荔枝果实的果肉分离物呼吸速率为  $0.038 \mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{min}^{-1}$ 。在树上成熟和果皮变红果实呼吸速率相当前者 39.4%。果肉的脂氧合酶活性从带绿色果实的  $1.352 \mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{min}^{-1}$  降至红果皮果实的  $0.663 \mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{min}^{-1}$ , 降低 50.9%。红果皮脂氧合酶活性亦较带绿色果皮的低 39.8%。结果表明, 果实成熟和果皮鲜红时, 呼吸速率和脂氧合酶活性均明显降低。

### 二、KCN 对成熟荔枝呼吸作用的抑制

2 m mol/L KCN 使果皮分离物的呼吸速率从 0.723 降至  $0.059 \mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{min}^{-1}$ , 抑制率为 91.8%, 而相同浓度 KCN 仅抑制果肉分离物的 54.1%。表明成熟果实的果皮呼吸对 KCN 抑制的反应敏感。

### 三、荔枝褐变果实呼吸作用和脂氧合酶活性

表 1 表明, 变褐果皮分离物的呼吸速率较鲜果低, 约为鲜果的 23.2%。2 m mol/L KCN 能抑制果皮分离物的大部分呼吸。1.5 m mol/L SHAM, 一种抗氰呼吸的抑制剂, 能继续抑制残余呼吸的 71.4%, 这一部分呼吸为交替途径呼吸, 约占总呼吸 5.28%。果皮变褐, 交替途径呼吸占总呼吸 27.14%。褐变果皮有较低呼吸速率, KCN 抑制敏感的呼吸部分占总呼吸比例较低, 而为 SHAM 抑制的交替途径呼吸的比例增高, 果皮褐变扩大了交替呼吸途径。褐变果皮分离物脂氧合酶活性 ( $0.580 \mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 仅相当于鲜果皮 ( $0.816 \mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 的 71.1%。果肉部分则为 90.1%。表明果皮褐变, 其脂氧合酶活性的降低较果肉明显。

表 1 KCN 和 SHAM 对荔枝鲜果和褐变果皮分离物呼吸的抑制作用

Table 1 The inhibition of KCN and SHAM to respiration for the preparation of the pericarp fresh and browning fruits

制备物 preparation	呼吸速率 respiration rate $\mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{pro.} \cdot \text{min}^{-1}$	抑制率(%) inhibition
鲜果皮 Fresh pericarp	0.763 *	-
+ 2 m mol/L KCN	0.056	92.6
+ 2 m mol/L KCN + 1.5 m mol/L SHAM	0.016	97.9
褐变果皮 browning pericarp	0.177	-
+ 2 m mol/L KCN	0.084	52.5
+ 2 m mol/L KCN + 1.5 m mol/L SHAM	0.036	79.7

\*n = 6

## 讨 论

未完全成熟和果皮略带绿色果实呼吸速率较成熟果实高。果实成熟和果皮鲜红时, 呼吸速率降低, 果皮和果肉脂氧合酶活性降低。Peterman 和 Siedow (1985) [12] 亦观察到大豆子叶衰老时, 脂氧合酶活性降低。在离体小麦和燕麦亦见此变化。荔枝果实成熟和采后贮

藏时果皮褐变, 脂氧合酶活性亦见降低。果实成熟或果皮褐变可能引起组织超结构变化, 生理活性降低了, 作为酶基质的代谢物减少, 而限制酶活性。或者在果实成熟后期, 组织合成低比活脂氧合酶, 最后导致酶活明显降低。

Parrish 和 Leopold (1978) [11] 曾观察到萌发大豆种子氧吸收对 KCN 和 SHAM 抑制敏感, 且脂氧合酶活性较高。脂氧合酶对 SHAM 抑制敏感, 而对 KCN 抑制不敏感。认为呼吸交替途径氧化酶和脂氧合酶易被混淆。本文结果表明, 荔枝果皮和果肉脂氧合酶活性相近, 但果皮呼吸对 KCN 抑制较果肉敏感。果皮褐变, 脂氧合酶活性降低, 而为 SHAM 抑制的交替途径呼吸比例增大。在荔枝, 脂氧合酶并不参与线粒体的氧吸收。

成熟荔枝果皮呼吸大部分为 2 m mol/L KCN 抑制, 而果肉则只有一半被 KCN 抑制。表明果皮呼吸的电子传递大部分通过细胞色素氧化酶途径, 而果肉仅占约一半。果皮变褐, KCN 抑制呼吸比例减少。Azcon-Bieto 等 (1980) [6] 曾观察到大豆叶片随叶龄增加, 呼吸速率降低, 其中主要是细胞色素氧化酶活性降低, 而交替途径则无变化。本文结果表明, 果皮褐变时, 交替途径呼吸占总呼吸的比例增大, 即呼吸电子传导通过交替途径氧化酶的比例增大。虽然对其意义尚不清楚。可能这与组织能量代谢调节有关。果皮褐变, 其生理活性和合成作用处于低水平, 交替途径加强, 则伴随着磷酸化作用减弱, 有利于热产生和  $H_2O_2$  积累, 后者可能与乙烯产生有关, 从而促进果实褐变深化。

### 参 考 文 献

- [1] 江建平, 苏美霞等, 1986: 荔枝果实在发育和采后的乙烯产生及其生理作用。植物生理学报, 12: 95—103。
- [2] 李沛文, 1966: 荔枝的气体贮藏。山地果树栽培研究, 上海科学技术出版社, 100—112。
- [3] 李明启, 严君灵, 1963: 荔枝果皮多酚氧化酶的研究。植物学报, 11: 329—337。
- [4] 李维信, 苏美霞, 李沛文, 1982: 荔枝气调贮藏的研究。华南农学院学报, 32: 54—61。
- [5] Axelrod, B., Cheesbrough, T.M., Lasso, S., 1981: Lipoxygenase from soybean. Method Enzym., 14: 441—451。
- [6] Azcon-Bieto, T., Lambers, H., Day, D.A., 1983: Respiration properties of developing bean and pea leaves. Aust. J. Plant Physiol., 10: 237—245。
- [7] Kar, M., Feierabend, J., 1984: Metabolism of activated oxygen in detached wheat and rye leaves and its relevance to the initiation of senescence. Plants, 160: 305—391。
- [8] Leshem, Y. Y., Barness, O., 1982: Lipoxygenase as effected by free radicals metabolism Senescence retardation by the xanthine oxidase inhibitor allopurinol, in: Wintermans, J.F.G.M., Kuiper, P. J. C., (eds) Biochemistry and metabolism. Pp. 275—278。
- [9] Leties, G. G., 1982: The cyanide-resistant, alternative path in higher plant respiration. Annu Rev. Plant Physiol., 33: 519—555。
- [10] Lowry, C. H., Rosebrough, N.J., Farr, A. L., Bardall, N. J., 1951: Protein measurements with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265—275。
- [11] Parrish, D. I., Leopold, A. C., 1978: Confounding of alternate respiration by lipoxygenase activity. Plant Physiol., 62: 470—472。
- [12] Peterman, T. K., Siedow, J.N., 1985: Behavior of lipoxygenase during establishment, senescence, and rejuvenation of soybean cotyledons. Plant Physiol., 78: 690—695。
- [13] Scott, K. J., Brown, B. T., Willcox, M. E., Bain, J.M., 1982: The control of rotting and browning of litchi fruit by hot benomyl and plastic film. Scientia Horticulturae, 16: 253—262。

## THE RESPIRATION AND LIPOXYGENASE ACTIVITY IN LITCHI FRUITS DURING RIPENING AND BROWNING

Sun Guchou

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)

**Abstract** The respiration rate of the extracts from litchi aril with green-red pericarp was  $0.038 \mu \text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ . And it decreased by 60.6% during complete ripening and the pericarp turned red, as compared with that with green-red pericarp. The activities of lipoygenase for the pericarp and aril decreased by 39.8% and 50.9% during ripened, respectively. The respiration of the pericarp of ripening fruits was sensitive to the inhibition of KCN. 2 m mol/L KCN can inhibit by 91.8% of total respiration, but only by 54.1% for the aril. The results showed that the electron in respiration of pericarp transferred via cytochrome oxidase while it might included alternative pathway oxidase in the aril. 2 m mol/L KCN+1.5 m mol/L SHAM can inhibit by 97.9% of total respiration and the alternative pathway which was inhibited by SHAM was by 5.28% of total respiration for the pericarp of ripening fruits. And the respiration was inhibited by KCN and SHAM with 79.7% of total respiration and SHAM inhibition for alternative pathway was by 27.14% in the pericarp of the browning fruits. It showed that the ratio of alternative pathway in total respiration increased during fruit browning. And this change might involve in the accumulation of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and the production of ethylene and promote fruit browning.

**Key words** Litchi fruit browning; alternative pathway respiration; lipoygenase activity