

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^[2,4,13]。江建平等^[1]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^[3]。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^[5,8], 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 lipoxygenase 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 H_2O_2 and the production of ethylene and promote fruit browning.

Key words Litchi fruit browning; alternative pathway respiration; lipoxygenase activity