

采后荔枝果实冷害过程中多胺含量的变化

胡位荣^{1,2}, 刘顺枝¹, 张昭其^{2*}, 蒋跃明³, 季作梁²

(1. 广州大学 生命科学学院, 广东 广州 510006; 2. 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642; 3. 中国科学院 华南植物园, 广东 广州 510650)

摘要: 以桂味荔枝果实为材料, 研究冷害及外源亚精胺(Spd)处理对果实膜透性和内源多胺含量变化的影响。结果表明, 在 0℃ 下贮藏时果实发生冷害过程中, 荔枝果皮中腐胺(Put)、Spd、精胺(Spm)含量在 14 d 后明显增加, 膜透性快速增大, 21 d 时果皮出现明显的冷害褐变, Put 进一步积累, 而 Spm 含量下降, Spd 保持较高水平。非冷害温度(3℃)下贮藏时, 果皮多胺含量变化相对较小。0℃ 下果肉的多胺含量和变化幅度低于 3℃ 果实, 并延迟 7 d 衰老。外源 Spd 处理明显提高果实内源多胺含量的同时, 延缓了果皮相对膜透性增加, 减轻了冷害。这表明果皮中 Put 的积累可能是荔枝果实冷害的结果, 冷藏初期 Spm 含量的上升可能是果实对冷害的防卫反应。

关键词: 荔枝果实; 多胺; 冷害

中图分类号: Q945.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2006)04-0370-05

Changes of polyamines contents during chilling injury of litchi fruit

HU Wei-rong^{1,2}, LIU Shun-zhi¹, ZHANG Zhao-qi^{2*},
JIANG Yue-ming³, JI Zuo-liang²

(1. College of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China; 2. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 3. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: Litchi (*Litchi chinensis* Sonn. cv. Guiwei) fruits stored at 0℃ and 3℃ and postharvest spermidine (Spd) treated fruits stored at 0℃ were respectively used to investigate the relationship between changes in polyamines and chilling injury. The content of putrescine (Put), Spd and spermine (Spm) in pericarp stored at 0℃ increased at the 14th day with a rapid increase in cell membrane permeability. After the fruits showed symptom of chilling injury as pericarp browning at the 21st day, Put accumulated further associated with the decrease of Spm. However, no significant content change of polyamines in pericarp was detected during storage at the non-chilling injury temperature (3℃). The levels of the three polyamines in pulp stored at 0℃ were lower than those at 3℃ and the senescence of the pulp was retarded about 7 days. Exogenous Spd alleviated the chilling injury symptoms of the fruits stored at 0℃ through elevation levels of endogenous polyamines. These results suggested that the accumulation of Put in litchi pericarp could be a consequence of the chilling injury while the increase in Spm level might served as a defense response.

Key words: fruit of *Litchi chinensis*; polyamine; chilling injury

收稿日期: 2005-02-16 修回日期: 2005-09-21

基金项目: 国家自然科学基金农业倾斜项目(30070534); 国家杰出青年科学基金项目(30425040) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(30070534); National Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholar(30425040)]

作者简介: 胡位荣(1966-), 男, 湖北仙桃人, 副教授, 博士, 主要从事果蔬采后生理与贮运研究, (E-mail) weironghu@163.com.

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: zqzhang@scau.edu.cn)

低温冷藏是荔枝果实贮藏保鲜最有效的方法,但是,在低于 3℃ 贮藏时易发生冷害(黄晓钰等,1990;胡位荣等,2004),导致果皮快速褐变,大大缩短货架寿命,加剧果实商品品质的损失。低温导致细胞膜结构损伤是产生冷害的根本原因(Paliyath等,1992)。多胺是生物体代谢过程中产生的具有生物活性的低分子量、多阳离子脂肪含氮碱,对细胞膜起稳定和保护作用,调节植物生长发育、果蔬成熟与衰老等(Serrano等,1996),参与植物对胁迫的响应(Bouchereau等,1999),在热带、亚热带果蔬低温贮藏冷害的发生中可能起着重要的调节作用(Serrano等,1996;郑永华等,2000a)。多胺在荔枝开花、坐果和生长发育及采后冷藏衰老过程中呈现规律性的变化(李建国等,2004;Jiang等,1995),但多胺与采后荔枝果实冷害的关系尚未见报道。本试验研究了冷害温度下贮藏和外源亚精胺(Spd)处理对荔枝果实膜透性和内源多胺含量变化的影响,以期丰富荔枝果实冷害机理及为减轻冷害发生提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

桂味荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)果实采自广州市从化,采后 8 h 内入库预冷,挑选成熟度一致、无病虫害和机械伤的果实,用 0.5% 漂白粉及 0.5 g · L⁻¹ 施保功洗果、防腐,晾干后用 0.03 mm 厚聚乙烯薄膜袋包装,置入日本产 SANYAN 恒温箱中,贮藏温度分别为(0±0.2)、(3±0.2)℃。同时,根据预备试验的结果,将荔枝果实置于 10 mmol · L⁻¹ Spd 溶液中(内含 0.5 g · L⁻¹ 施保功、0.01% Tween20),用 SH2-C 型真空泵抽真空 5 min,使压力达 7.5 × 10⁴ Pa,取出果实,晾干包装,以含 0.5 g · L⁻¹ 施保功、0.01% Tween20 的蒸馏水处理作对照,贮藏在(0±0.2)℃。

1.2 贮藏效果观察和果皮膜透性测定

贮藏过程中按照胡位荣等(2004)方法每隔 7 d 抽样统计果实褐变情况和好果率,每次每处理随机抽查 60 个果实以上。重复 3 次。

定期从 12 个果实中取果皮圆片 30 个,双蒸馏水清洗后用滤纸吸干,放入 50 mL 具塞刻度试管中,加 25 mL 双蒸馏水,室温(28~30℃)放置 30 min,用 DDS-11A 型电导仪测定浸出液电导度。随后再将果皮及浸出液煮沸 30 min,冷却后测定果

皮全渗电导度。以浸出液电导度占全渗时电导度的百分率表示果皮细胞膜透性。重复 3 次。

1.3 多胺含量测定

参照李建国等(2004)的方法提取多胺。称取 1 g 果皮(或 3 g 果肉)液氮磨碎,加入 5 mL 预冷的 5%(w/v)高氯酸匀浆,冰浴中浸提 1 h,4℃ 低温下 15 000 × g 离心 30 min,收集上清液。取 1 mL 多胺提取液,加入 1 mL 2 mol · L⁻¹ NaOH、10 μL 苯甲酰氯,涡旋 20 s 后在 30℃ 下保温 30 min,然后加入 2 mL 饱和 NaCl、2 mL 乙醚,涡旋 20 s 后于 4℃ 下 300 × g 离心 5 min,收集 1 mL 醚相于小指管中,40℃ 热空气吹干,残基于 -34℃ 下保存备用。

参照王富民等(1988)的方法采用高效液相色谱法(HPLC)测定多胺含量。供作标样的 Put、Spm 为 Fluka 公司产品,Spd 为 Sigma 公司产品。高效液相色谱仪为美国 Agilent 1100 series,色谱柱为 Hypersil ODS 反向柱(粒度 5 μm,5 mm × 250 mm)。流动相为甲醇:乙腈:水=64:2.5:33.5,流速 0.5 mL · min⁻¹,柱温 25℃。用 VWD G1314A 型紫外检测器在波长 254 nm 下检测。HPLC 样品用 500 μL 60%(v/v)甲醇(双蒸馏水配制)溶解,过滤后用于测定。进样量为 25 μL,用外标法定量计算。重复 3 次。

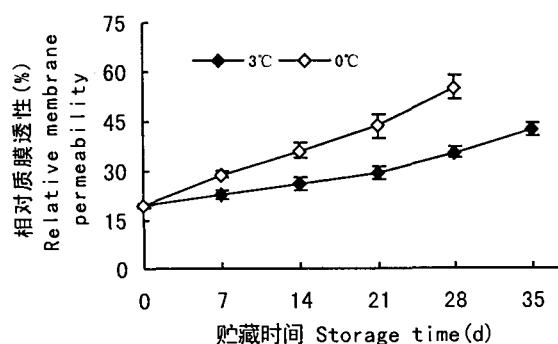


图 1 低温贮藏对荔枝果皮细胞膜透性的影响
Fig. 1 Effect of low-temperature storage on cell membrane permeability of 'Guiwei' litchi pericarp

2 结果与讨论

2.1 低温下荔枝果皮膜透性的变化

从外观上来看,桂味荔枝在 3℃ 下贮藏 35 d 时果皮出现衰老性褐变,0℃ 下 28 d 时果皮呈现明显的水渍状冷害褐斑。从图 1 可以看出,随着冷藏时间的延长,荔枝果皮膜透性在不同低温下持续增加,

0℃下细胞膜透性在14~21 d期间明显增大,28 d时达到55.0%,增加幅度明显高于3℃果实,3℃下35 d时膜透性为42.2%。

2.2 低温下荔枝果皮内源多胺含量的变化

桂味荔枝果皮的多胺含量变化在不同低温环境下存在着明显差异,0℃下的3种多胺含量在21 d前后均高于3℃果实(图2)。3℃下果皮Put含量呈下降趋势,波动较小,0℃下前14 d的Put含量略有降低,之后迅速上升,21 d、28 d时Put含量分别是3℃下果皮的1.6和2.5倍。可见,荔枝冷害发生后,果皮中的Put大量积累。

桂味荔枝在3℃下贮藏7 d后,果皮中Spd含量持续下降,由166.3 nmol·g⁻¹FW降低到28 d时的92.84 nmol·g⁻¹FW,而0℃下果皮的Spd含量在前1周有所下降,之后维持在较高水平。

桂味荔枝果皮Spm含量在3℃下贮藏7 d后上

升,于28 d时形成高峰,比采收时高出2.5倍。0℃下荔枝果皮Spm含量不断升高,并于21 d时形成高峰。

2.3 低温下荔枝果肉多胺含量的变化

虽然桂味荔枝在3℃和0℃下贮藏时,果皮分别于35 d和28 d时出现衰老褐变和冷害褐变症状(如前所述),但果肉本身结构、色泽正常,分别于42 d和49 d时才呈现衰老。从果肉多胺含量变化可以看出,3℃下荔枝在14~21 d期间果肉Put、Spd含量较高,之后较快地下降,而0℃下果肉Put含量在贮藏前期缓慢升高,35 d时出现高峰,Spd含量保持低水平(图3)。整个贮藏期间,荔枝在0℃下果肉Spm含量变化趋势与3℃贮果相似,均在28 d时有一高峰值,但含量低于3℃贮果。3℃贮果果肉多胺含量较高,可能与果肉的衰老有关,0℃可抑制果肉多胺含量的积累,使果肉在贮藏期间保持较低的多胺水平。

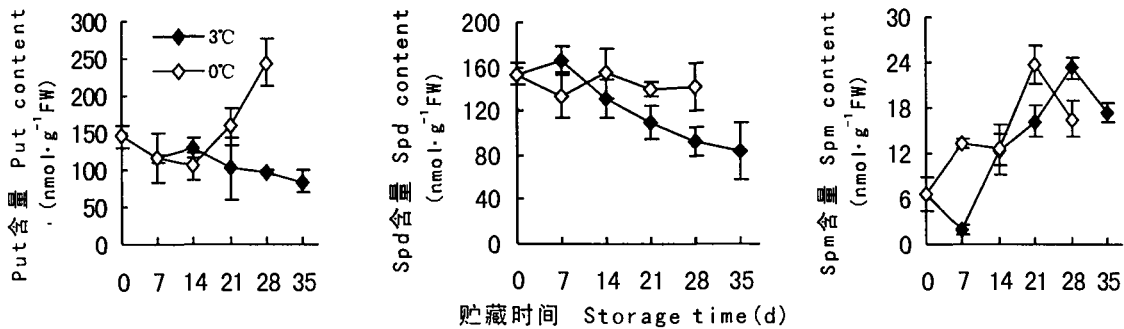


图2 低温贮藏对荔枝果皮内源多胺含量的影响

Fig. 2 Effect of low-temperature storage on polyamine contents in 'Guiwei' litchi pericarp

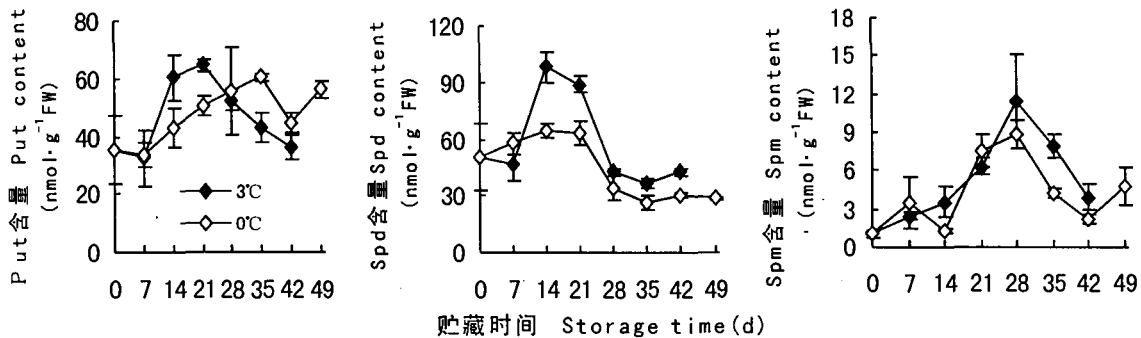


图3 低温贮藏对荔枝果肉内源多胺含量的影响

Fig. 3 Effect of low-temperature storage on polyamines contents in 'Guiwei' litchi pulp

2.4 Spd处理对荔枝果实膜透性和内源多胺含量变化的影响

Spd处理后荔枝0℃贮藏14 d时褐变指数为1.08,明显低于对照的1.42(P<0.05);21 d时,对

照果皮失去光泽,好果率6.2%,而处理果实色泽较明亮,好果率70.7%;28 d时,对照果皮呈现明显水渍状褐斑,没有好果,在货架期时表现更明显,而处理果实的褐变指数明显低于对照,但好果率仅

5.3%。说明 Spd 提高荔枝在 0℃ 下的短期贮藏性能作用明显,但是在冷害温度中贮藏超过一定时间,果实仍然出现不可逆的冷害。

果皮膜透性变化:果皮细胞膜透性的变化是反应荔枝冷害程度的一个指标(黄晓钰等,1990;胡位荣等,2004)。从图 4 可以看出,Spd 处理降低了荔枝果皮细胞膜透性,14 d 和 21 d 时膜透性分别为对照的 87.0% 和 86.7%,表明 Spd 有利于提高细胞膜的稳定性,减轻冷害发生程度。

内源多胺含量变化:Spd 处理的荔枝果皮内源 Put、Spd、Spm 含量变化趋势相似,处理后这 3 种多胺含量立即分别增加 16.7、3.0 和 8.2 倍,随后急剧下降(图 5)。在冷藏的前 14 d 里,处理果实的多胺

含量高于对照,21 d 前后 3 种多胺含量则低于对照。

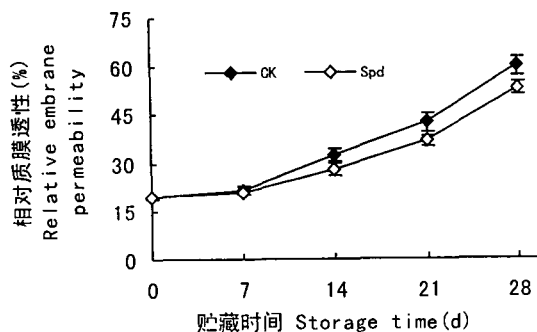


图 4 Spd 处理对荔枝果实膜透性变化的影响
Fig. 4 Effect of Spd treatment on cell membrane permeability of 'Guiwei' litchi fruit stored at 0°C

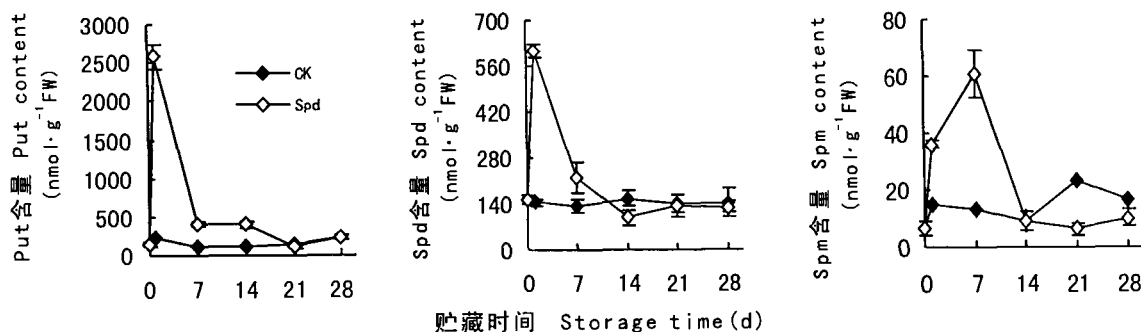


图 5 Spd 处理对桂味果皮内源多胺含量的影响
Fig. 5 Effect of Spd treatment on polyamines content of 'Guiwei' litchi pericarp stored at 0°C

3 讨论

当植物处于逆境条件下时,细胞内常会积累大量多胺,在生理酸性条件下带多个正电荷的多胺可通过氢键和离子键与细胞膜上带负电荷的磷脂紧密结合,对组织起保护作用(Bouchereau 等,1999)。近几年来果蔬冷害与多胺关系的研究表明,在冷害温度下贮藏的果实,内源多胺含量会发生显著的变化(罗自生等,2003;郑永华等,2000a,2000b;季作梁等,1998;范华等,1996;Serrano 等,1996)。Serrano 等(1996)将青椒在 0℃ 下贮藏 6 周时,Put 含量大量增加,是采收时的 10 倍,60% 的果实表皮出现凹陷的冷害症状。Yuen 等(1995)发现柑橘类果实在 0℃ 贮藏时 Put 含量随冷害程度的增加而提高。郑永华等(2000b)认为 Put 积累是枇杷冷害的原因。本试验中,非冷害温度(3℃)下,荔枝果实自然衰老,果皮 Put、Spd 含量呈下降趋势,这与 Jiang 等

(1995)将淮枝荔枝冷藏在 5℃ 的报道相似。当将果实移入冷害温度(0℃)环境时,果皮 Put、Spd 含量略有下降,Spm 含量应激增,但伴随冷害的发生,Put、Spm 上升,Spd 维持在较高水平;当果皮开始呈现冷害褐变症状,即 21 d 后,Put 进一步积累,Spm、Spd 呈下降趋势。对低温更敏感的糯米糍荔枝在 0℃ 下冷害过程中,Put 积累更明显(数据未列出)。这些结果说明,多胺的积累也是荔枝果实对冷害的一种反应,其中 Put 的累积似乎是果实冷害的结果,而 Spm 的上升是一种防卫性反应。为了证实这一推测,我们将经过外源 Spd 处理的桂味荔枝果实贮藏于 0℃ 下,结果表明 Spd 明显提高了荔枝果皮 3 种内源多胺的含量,特别是 Spm 含量增加了 8.2 倍,并能较长时间维持高水平(图 5),从而延缓了果皮膜透性的升高(图 4),保持了细胞膜的稳定性,减轻了冷害程度。Jiang 等(1995)比较外源 Put、Spd 和 Spm 处理对冷藏荔枝褐变影响时也认为 Spm 效果最好。

由于多胺对增强植物抗逆性发挥着重要的作

用,于是人们采用温度预处理(范华等,1996;罗自生等,2003)、间歇加温(茅春林等,1999)、外源多胺处理(王勇等,2003;郑永华等,2000b;季作梁等,1998;McDonald等,1986)等提高果实内源多胺水平,以减轻果蔬冷害的发生。本研究中,Spd处理也减轻了荔枝果实的冷害,但随着在0℃下贮藏时间的延长,果皮中多胺含量因代谢紊乱而下降,果皮严重冷害褐变,说明增加多胺以提高冷害期间细胞活力的作用是有限的,在长期低温下不能改变冷害的总趋势(季作梁等,1998)。

在3℃下贮藏期间,桂味荔枝果皮的多胺含量保持在相对低水平,波动幅度较小,果皮没有出现冷害。有趣的是,在0℃下的果肉中多胺含量较果皮低,变化也较平缓,Put、Spd和Spm含量低于3℃下的果肉,并延迟7d衰老(图3),笔者推测,可能是因为荔枝果肉在结构上与果皮完全分离,两者之间无输导组织相连,呈现典型的“瓶胆”关系(黄辉白,1995),0℃对于果皮而言是冷害温度,但对于果肉而言不是冷害胁迫,只是比3℃更进一步地抑制了果肉的生理代谢活动,导致0℃下果肉多胺合成减少,变化平缓,从而延迟了果肉的衰老。在0℃下贮藏后期,果肉Put含量也有所积累,可能是果肉走向了衰败。

综上所述,在冷藏适温下随着荔枝果实自然衰老,果皮和果肉中多胺含量呈下降趋势,在冷害温度下,随着冷害的发生,果皮多胺含量明显增加,提高果实内源多胺含量的采后措施可在一定程度上短期内减轻荔枝的冷害。

参考文献:

- 黄辉白. 1995. 具假种皮(荔枝、龙眼)果实生理研究进展. 园艺学年评[M]. 北京:科学出版社,107-120.
- Bouchereau A, Aziz A, Larher F, et al. 1999. Polyamines and environmental challenges; recent development [J]. *Plant Sci*, **140**:103-125.
- Fan H(范华), Feng SQ(冯双庆), Zhao YM(赵玉梅). 1996. The correlation of polyamines with chilling injury of cucumber and tomato and the treatments for alleviating chilling injury(黄瓜、番茄冷害以及黄瓜温度预处理与多胺的相关性)[J]. *J China Agric Univ*(中国农业大学学报), **1**(1):108-112.
- Hu WR(胡位荣), Zhang ZQ(张昭其), Ji ZL(季作梁), et al. 2004. Effect of chilling injury on membrane lipid peroxidation and activities of cell defense enzyme in litchi pericarp(冷害对荔枝果皮膜脂过氧化和保护酶活性的影响)[J]. *J South China Agric Univ*(华南农业大学学报), **25**(3):6-9.
- Huang XY(黄晓钰), Kang DM(康德妹), Ji ZL(季作梁). 1990. The optimum storage temperature for litchi fruits and chilling injury to them(荔枝果实的冷藏适温与冷害)[J]. *J South China Agric Univ*(华南农业大学学报), **11**(3):13-18.
- Ji ZL(季作梁), Hong HJ(洪汉君), Zhang ZQ(张昭其), et al. 1998. Effect of polyamines on chilling injury of cold-stored mango fruits(多胺与芒果贮藏冷害的研究)[J]. *Chin J Trop Crop*(热带作物学报), **19**(3):28-32.
- Jiang YM, Chen F. 1995. A study on polyamine change and browning of fruit during cold storage of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.)[J]. *Postharv Biol Techn*, **5**:245-250.
- Li JG(李建国), Liu SZ(刘顺枝), Wang ZH(王泽槐). 2004. Changes in endogenous polyamine contents during fruit development of litchi (*Litchi chinensis*) (荔枝果实发育过程中内源多胺含量的变化)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **40**(2):153-156.
- Luo ZS(罗自生), Xi YF(席筠芳), Lou J(楼健). 2003. Relationships between heat treatment for alleviating injury and endogenous polyamine of persimmon fruits(热处理减轻柿果冷害与内源多胺的关系)[J]. *Sci Agri Sin*(中国农业科学), **36**(4):429-432.
- Mao CL(茅春林), Zhang SL(张上隆). 1999. Response of polyamines and ethylene in peaches to chilling stress(采后桃果实中多胺和乙烯对低温胁迫的反应)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **26**(6):360-363.
- McDonald R E, Kushad M M. 1986. Accumulation of putrescine during chilling injury of fruit[J]. *Plant Physiol*, **82**:324-326.
- Paliyath G, Droillard M J. 1992. The mechanism of membrane deterioration and disassembly during senescence[J]. *Plant Physiol Biochem*, **30**:789-812.
- Serrano M, Martinez-Madrid M C, Martinez G, et al. 1996. Role of polyamines in chilling injury of fruit and vegetables [J]. *Food Sci Tech Intl*, **2**:195-199.
- Wang Y(王勇), Lu WJ(陆旺金), Zhang ZQ(张昭其), et al. 2003. ABA and putrescine treatments alleviate chilling injury in banana fruits during storage at 8℃(ABA和腐胺处理减轻香蕉果实贮藏冷害)[J]. *J Plant Physiol Molec Biol*(植物生理与分子生物学报), **29**(6):549-554.
- Wang FM(王富民), Xue YL(薛应龙). 1988. Measurement of polyamine contents in plant tissue(植物组织内多胺含量的测定)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **24**(1):39-41.
- Yuen C M C, Tridjaja N O. 1995. Chilling injury development of Tabitian lime, Emperor mandarine, Marsh grapefruit and Valencia orange[J]. *J Sci Food Physiol*, **67**:335-339.
- Zheng YH(郑永华), Xi YF(席筠芳), Li SY(李三五). 2000a. The chilling injury of fruits and vegetables during storage in relation to polyamines(采后果蔬贮藏时冷害与多胺的关系)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **36**(5):485-490.
- Zheng YH(郑永华), Li SY(李三五), Xi YF(席筠芳), et al. 2000b. Polyamine changes and chilling injury in cold-stored loquat fruits(多胺与枇杷果实冷害的关系)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **42**(8):824-827.