

· 研究简报 ·

荔枝种子脱水敏感性与组织褐变的关系*

宋松泉 傅家瑞

(生物学系)

摘要 荔枝种子在贮藏过程中对脱水高度敏感,随着种子含水量下降,种子的发芽率、活力指数和总酚含量下降,多酚氧化酶活性先上升然后迅速下降。其脱水敏感性的原因可能是荔枝种子膜的完整性受到损伤,酚类物质和多酚氧化酶的细胞内分室作用丧失,酚类被氧化成醌,从而毒害细胞,加速种子的劣变和死亡。

关键词 脱水敏感性,酚类,多酚氧化酶,荔枝种子

荔枝是中国南方的名果,色、香、味俱佳。但荔枝种子不经过成熟干燥,在贮藏过程中对脱水和低温敏感,是典型的顽拗性种子^[1,2]。多酚氧化酶(PPO, EC 1.10.3.1.)存在于荔枝果皮^[3]和种子中^[4]。目前认为,植物组织的褐变与PPO有关。在有氧条件下,酚类物质由PPO催化氧化为醌,醌再通过聚合作用产生有色物质而引起组织褐变^[6]。在芒果、荔枝、龙眼等顽拗性种子的贮藏行为研究中观察到,种子活力的丧失与组织褐变同时发生,但缺乏实验数据。本文以荔枝种子为材料探讨了顽拗性种子脱水敏感性与组织褐变的关系。

1 材料和方法

供试荔枝品种为淮枝(*Litchi Chinensis* Sonn. cv. Huaizhi)。果实采自广州市郊从化县。手工收获后4h内运回实验室,在实验室剥取种子。种子经选择后,贮藏于28~32℃,78%~87%RH的条件下,分别于0、2、4、6、8、10天取样进行各项测定。

1.1 种子活力的测定 按照傅家瑞^[6]的方法。

1.2 总酚含量的测定 参照Pirie等^[7]的方法,称取一定重量去种皮的种仁,立即以含1% HCl的甲醇溶液提取,将上清液定容后,于280nm测定光的吸收变化。以没食子酸作标准曲线,其浓度范围为1~20μg/ml。

1.3 PPO活性的测定 参照林植芳等^[8]、Benjamin和Montgomery^[9]的方法,去种皮的荔枝种仁,加0.05mol/L磷酸缓冲液, pH6.8, 4℃下研磨提取,四层纱布过滤,19,000×g离心20min。取上清液0.1ml(15~25μg蛋白),0.2ml 60mmol/L邻苯二酚,2.7ml 0.05mol/L磷酸缓冲液, pH6.8,测定波长398nm,酶活性以每分钟光密度变化0.001为一个单位。

本文1990年12月12日收到

* 国家自然科学基金资助项目

1.4 蛋白质测定 按照Bradford^[10]的考马斯亮蓝G-250方法,以牛血清蛋白作标准。

1.5 含水量测定 按照Chin和Krishnapllay^[11]的方法,将荔枝种子切成1mm厚的薄片,放101~105℃烘箱中16h,计算含水量。

以上实验均取3次重复平均值。

2 实验结果

2.1 种子含水量和活力的变化 刚收获的荔枝种子的含水量为42.7%,其发芽率和活力指数分别为100%和7.39。在贮藏过程中(28~32℃,78%~87%RH)随着贮藏时间的增加,种子的含水量、发芽率和活力指数下降(图1)。贮藏4天时,种子的含水量下降至37.9%,发芽率仍保持100%,此时活力指数已有所下降。到第8天时,含水量为30.9%,而种子的发芽率和活力指数几乎为零。从第4天到第8天,种子的含水量仅下降了7%,其发芽率和活力指数却分别下降了约100%和70%,说明荔枝种子对脱水高度敏感(图1)。

2.2 总酚含量的变化 新鲜的荔枝种子,其总酚含量为41.02 mg/g干重,子叶横切面呈白色。贮藏10天后,总酚含量为30.75 mg/g干重,下降了25%。在贮藏过程中,0~6天总酚含量呈直线下降,6~10天略为下降(图2);其子叶横切面由白色转为浅褐色、深褐色以至黑褐色,呈现明显的梯度褐变。

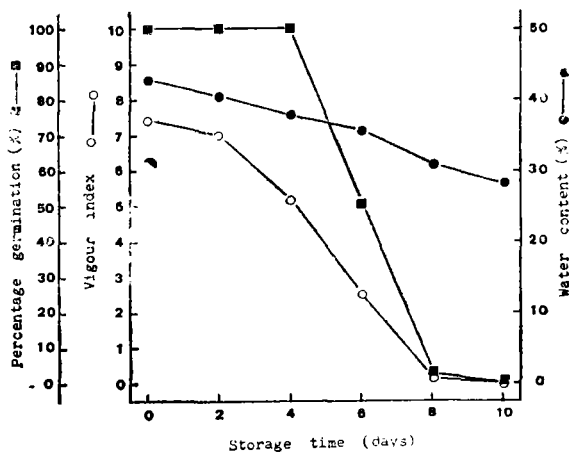


图1 荔枝种子贮藏过程中含水量、发芽率和活力指数的变化

Fig.1 Change of water content, germination percentage and vigour index during storage of lychee seeds

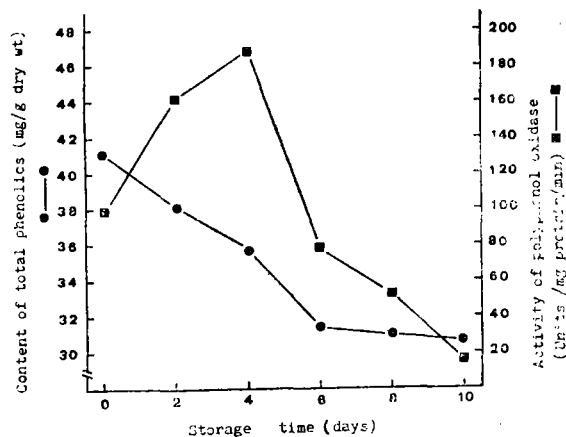


图2 荔枝种子贮藏过程中总酚含量和多酚氧化酶活性的变化

Fig.2 Change in content of total phenols and activity of polyphenol oxidase during storage of lychee seeds

2.3 多酚氧化酶活性的变化 PPO活性在0~4天显著增加,第4天的酶活性为0天的191.9%。4天后酶活性下降,到第10天酶活性为16.0单位 mg^{-1} 蛋白 min^{-1} ,比0天的酶活性还低83.8%(图2)。

2.4 总酚含量与种子活力的关系 图3表明,随着种子含水量的下降,其发芽率,活力指数和总酚含量下降,且具有较好的相关性。说明酚类物质被氧化成醌后,会毒害植物细胞,使种子生活力丧失。

3 讨论

Farrant等^[12]认为顽拗性种子脱水敏感性的原因是种子在脱落后立即萌发。在贮藏中,甚至在轻微水分丧失的条件下,有关的亚细胞活动仍能进行,直到细胞分裂和普遍的液泡化开始。当萌发过程继续进行时,种子的水分需要量和致死水分含量上升,水分丧失甚至不丧失都会导致代谢作用的混乱,直到最后亚细胞结构,包括膜的稳定性丧失。膜稳定性的丧失就导致质膜、液泡膜和其他膜完整性的破坏,生活力也丧失。

乔原珍在研究荔枝种子的脱水和贮藏生理时发现,在贮藏过程中,随着种子含水量下降,其种子浸出液的电导率和挥发性醛的含量上升¹⁾。挥发性醛是脂质过氧化产物,种子浸出液的电导率和挥发性醛含量上升,表明膜透性增加和/或膜完整性受到破坏。Berjak等^[13]观察到,*Landophia kirkii*(一种产生顽拗性种子的植物)种子在硅胶上缓慢干燥15天后,含水量丧失29%,生活力下降为50%。此时细胞质已经向内收缩;核膜异常,偶尔出现裂缝。干燥20天后,液泡膜溶解,质膜破裂,生活力下降为7%。这就进一步说明顽拗性种子脱水敏感性的原因之一是膜结构的伤害。

荔枝种子中具有酶促褐变的3个条件:酶、底物和氧。在贮藏前期(0~4天),PPO活性上升与总酚含量迅速减少,组织明显褐变相关。在贮藏后期(4~10天),PPO活性下降可能是由于膜完整性丧失,以及较长时间的温度效应(28~32℃),使PPO失活,从而酶活性降低。

鞠志国等^[14]研究证实,在莱阳茘梨果实中酚类物质只存在于液泡内,PPO分布在细胞质中,液泡内无PPO存在。刘淑娴等²⁾观察到,在采后鲜红的荔枝果皮中,PPO活性反应除导管位于细胞壁外,在其他细胞内均存在于细胞质或细胞质颗粒中,区域化明显。他们还观察到,荔枝果皮褐变伴随着膜透性增加;褐变果皮细胞中液泡和质体的膜结构解体。

膜结构损伤以至于解体,使细胞内的“区域化”作用破坏,酶与底物相互接触,酚类被氧化成醌类从而毒害细胞,加剧了种子生活力的丧失。因为酚类及其氧化产物可从三个方面毒害细胞:①酚类物质与蛋白质和/或酶发生氢键结合,使蛋白质变性和酶活

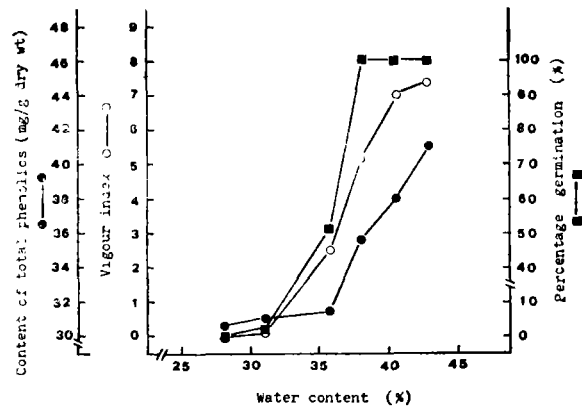


图3 荔枝种子含水量与发芽率、活力指数及总酚含量的关系

Fig.3 Water content of lychee seeds in relation with germination percentage, vigour index and content of total phenols

1) 乔原珍,硕士学位论文,1989

2) 刘淑娴等.中国植物生理学会第五次全国会议论文摘要汇编,中国植物生理学会编辑,1990,155~156

性丧失^[11]; ②酚类物质是许多金属离子如 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 等的络合剂; ③酚的氧化产物醌不但在非酶促的情况下发生自我聚合, 还极易与含有羟基和巯基之类的化合物发生聚合反应^[16]。因此荔枝种子在贮藏过程中生活力的丧失可能是膜完整性丧失和酚类及其氧化产物毒害的结果。进一步研究醌类物质与种子生活力的关系, 筛选理想的PPO抑制剂以及有效的膜稳定剂, 可望提高荔枝种子的贮藏寿命。

参 考 文 献

- 1 Chin H F *et al.* Seed Sci & Technol, 1984, 12: 429~436
- 2 张北壮, 傅家瑞. 中山大学学报(自然科学版), 1989, 28(2): 92~95
- 3 谭兴杰, 周永成. 植物生理学报, 1987, 13(2): 197~203
- 4 陈光仪, 傅家瑞. 植物生理学通讯, 1989(3): 11~14
- 5 Ben-Arie R, Or E. J Amer Soc Hort Sci, 1986, 111: 395~399
- 6 傅家瑞. 种子生理. 北京: 科学出版社, 1985. 376~380
- 7 Pirie A, Mullins M G. Plant Physiol, 1976, 58: 468~472
- 8 林植芳等. 植物学报, 1988, 30(1): 40~45
- 9 Benjamin N D, Montgomery M W. J Food Sci, 1973, 38: 799~806
- 10 Bradford M M. Anal Biochem, 1976, 72: 248~254
- 11 Chin H F, Krishnapillay B. Seed Moisture: Recalcitrant vs. Orthodox Seeds. In Seed Moisture. CSSA Special Publication Number 14, Madison, 1989. 15~22
- 12 Farrant J M *et al.* Seed Sci & Technol, 1988, 16: 155~166
- 13 Berjak P *et al.* Seed Sci & Technol, 1990, 18: 297~310
- 14 鞠志国等. 植物生理学报, 1988, 14(4): 356~361
- 15 Harbone J B. Plant phenolics. In Bell E A, Charwood BV (eds). Secondary Plant Products. Springer-Verlag, Berlin, 1980. 329~402

Desiccation-sensitivity of Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) Seed in Relation with Tissues Browning

Song Songquan* Fu Jiarui

Abstract Lychee seed is of high desiccation-sensitivity during storage. When water content of seed declined, germination percentage, vigour index and content of total phenols decreased. In the meantime, the activity of polyphenol oxidase, first increased and then rapidly decreased. The reason why lychee seed was sensitive to desiccation could be that membrane integrity was damaged, and that intracellular compartmentations of phenolic compounds and polyphenol oxidase were lost. And then phenolic compounds were oxidized into quinones when lychee seed was desiccated. Therefore, cells were poisoned, and deterioration and death of seeds were accelerated.

Keywords desiccation-sensitivity, phenolic compounds, polyphenol oxidase, lychee seed

* Department of Biology