

低温贮藏甜瓜的离子外渗研究

刘芳^{1,2}, 陈年来^{2,*}, 张玉鑫²

(1. 乐山师范学院化学与生命科学院, 四川 乐山 614004; 2. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 研究不同贮藏温度下甜瓜果实的细胞膜透性变化及 K^+ 、 Na^+ 和 Ca^{2+} 的外渗率。结果表明, 甜瓜果实在 $2^{\circ}C$ 和 $5^{\circ}C$ 贮藏条件发生冷害, 其细胞膜透性增加, 且温度越低增加越大, 表明对膜的伤害越严重。 K^+ 的外渗率随温度的降低而增大; Na^+ 外渗率随贮藏时间的延长而增加, 21d后贮藏温度越低 Na^+ 外渗率越大; Ca^{2+} 的外渗率极低, 且温度和贮藏时间对其影响不大。

关键词: 甜瓜; 冷害; 离子外渗; K^+ ; Na^+ ; Ca^{2+}

Ions Leakage of 'Honey Dew' Muskmelon during Cold Storage

LIU Fang^{1,2}, CHEN Nian-lai^{2,*}, ZHANG Yu-xin²

(1. College of Chemistry and Life Science, Leshan Normal University, Leshan 614004, China

2. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Membrane permeability, leakage of K^+ , Na^+ and Ca^{2+} of 'Honey Dew' muskmelon stored at different temperatures were investigated. Results indicated that low temperature storage promoted membrane permeability. The leakage of K^+ increased with the decrease of temperature, and the leakage of Na^+ increased with the increase of storage time and the decrease of temperature after 21d. The leakage amount of Ca^{2+} was at a low level, and not affected by storage temperature or time.

Key words: chilling injury; ions leakage; K^+ ; Na^+ ; Ca^{2+}

中图分类号: S609.3; TS255.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)10-0271-03

冷害是指一些生长于热带、亚热带高温环境中的植物或植物器官, 对低温敏感, 在不适当的低温(高于冰点温度)产生代谢失调和细胞伤害^[1]。一般以有无水浸斑作为植物是否发生冷害的外观标志, 水浸斑形成的原因在于低温下植物细胞膜受到损伤而使其透性增加, 细胞内物质外渗^[2]。陈发河等^[3]报道, 甜椒(*Capsicum frutescens* L.)在 $0\sim 1^{\circ}C$ 贮藏, 果肉细胞电解质大量外渗, 膜透性增大。段学武等^[4]认为, 草菇(*Volvariella volvacea* Sing.)冷害后细胞膜透性增加, 大量的水分和内含物渗出胞外。林河通^[5]和周龙^[6]分别研究橄榄(*Canarium album* Raeusch.)和龙眼(*Dimocarpus longan* Lour)的低温贮藏后认为冷害温度下果实的膜透性提高, 电解质渗漏增大, 电解质渗漏在低温下的变化可作为测定果实冷害程度的指标之一。茄子(*Solanum melongena* L.)^[7]、黄瓜(*Cucumis sativus* L.)^[8]、芒果(*Mangifera indica* L.)^[9]、番茄(*Lycopersicon esculentum* Miller)^[10]的研究也得以证明, 冷害温度下果实的电解质大量外渗, 膜

透性增大。Lieberman^[11]在研究冷害温度下甘薯(*Ipomoea batatas* Lam.)组织外渗液时发现, 电导值的增大是由于 K^+ 外渗增加而引起的。甜瓜果实对温度敏感, 在低温条件贮藏易发生冷害。冷害后甜瓜(*Cucumis melo* L.)果实离子外渗的种类、外渗率的大小及与细胞膜透性的相互关系未见文献报道。

本实验研究贮藏于低温条件下甜瓜果实 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 等离子外渗率的大小, 以期能阐明甜瓜果实冷害后细胞膜受损情况和 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 的外渗动态, 为甜瓜果实的低温贮藏提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

以“台农2号”甜瓜果实为试验材料, 该品种早熟, 果实为椭圆形或圆形, 果皮乳白色, 果面光滑或稍有网纹。隶属于冬甜瓜变种(*Cucumis melo* L. var. *inodorus*)。供试果实于2004年12月30日采自甘肃省靖

收稿日期: 2010-06-28

基金项目: 澳大利亚国际农业研究中心项目(PHT/1998/152)

作者简介: 刘芳(1978—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为植物贮藏生理。E-mail: liufang9028@163.com

* 通信作者: 陈年来(1962—), 男, 教授, 博士, 研究方向为植物生理。E-mail: chennl@gsau.edu.cn

远县商业性甜瓜生产温室,挑选大小一致、均为八成熟的果实采收并单瓜编号,装入两侧开孔的甜瓜运输专用纸板箱(12个/箱)于采摘当日运至兰州冷藏。抵兰州后分别贮藏在(2±0.5)、(5±0.5)、(8±0.5)℃ RXZ型智能人工气候箱内。每个温度3次重复,每次重复贮藏3箱,贮藏期为28d。

三乙醇胺(分析纯) 上海抚佳精细化工有限公司;
NaOH(分析纯) 天津大陆化学试剂厂; EDTA(化学纯) 上海南翔有限公司。

1.2 仪器与设备

DDS-12A型数字电导仪 上海大普仪器有限公司;
6410型火焰分光光度计 上海分析仪器厂; RXZ型智能人工气候箱 宁波东南仪器有限公司。

1.3 方法

果实贮藏期间,在80%甜瓜果实出现水浸斑、下陷斑和褐变时取样进行甜瓜果实电导率和离子泄露的测定。

1.3.1 相对电导率测定

用直径1cm的打孔器自甜瓜果实果皮外部打孔,取出后切成厚约3mm圆片,称取5g,用蒸馏水洗净破碎细胞外渗的汁液,置入100mL小烧杯中,加50mL蒸馏水,放入真空干燥器中抽气1h使果肉圆片完全下沉,取出烧杯,室温放置1h,其间晃动烧杯数次。用电导仪测其初始电导率(A),然后将样品管在100℃沸水浴中蒸煮15min,取出后在冷水浴中降温,降至室温后测其总电导率(B)。以相对电导率表示果肉细胞膜的相对透性。

$$\text{相对电导率}/\% = A/B \times 100$$

1.3.2 离子外渗率测定

待测液的制备同电导率测定。每个样品3个重复。Na⁺、K⁺含量使用分光光度计测定。Ca²⁺采用EDTA滴定法测定。吸取待测液20mL,放入150mL三角瓶中,用水稀释至约50mL,加入1:1三乙醇胺2mL,摇匀,再加4mol/L NaOH 2mL,摇匀放置2min待Mg(OH)₂沉淀后立即加入K-R指示剂0.1~0.2g,用0.01mol/L EDTA标准溶液滴定至紫红色突变为蓝绿色。记录所有EDTA的毫升数为V₁。

$$\text{Ca}^{2+}/\% = \frac{M \times V_1 \times 0.04008 \times \text{总溶液的体积}}{\text{待测液体} \times \text{样品质量}} \times 100$$

式中: M为EDTA标准溶液的浓度; V₁为EDTA溶液滴定Ca²⁺时消耗的体积。

2 结果与分析

2.1 温度对甜瓜果实细胞膜透性的影响

在低温贮藏过程中,甜瓜果实细胞膜透性随贮藏温

度的降低和贮藏时间的延长逐渐增大(图1)。甜瓜果实在2℃和5℃贮藏12d时,出现典型冷害症状——水浸斑,此时细胞膜透性分别为51.09%和48.08%,8℃贮藏的果实未发生冷害,细胞膜透性是45.32%,各处理之间差异极显著(P<0.01)。贮藏28d,2℃和5℃条件果实的细胞膜相对透性分别达71.73%和69.72%,较8℃贮藏果实的分别高出15.94%和13.94%,说明冷害低温破坏了膜的完整性,加剧了细胞内离子的外渗,膜完整性破坏程度随时间延长和温度降低而加重。

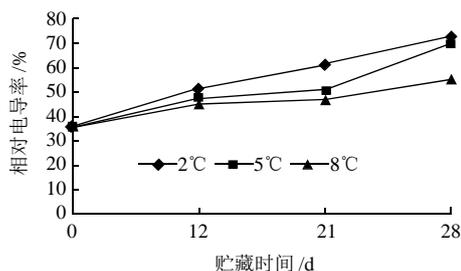


图1 不同温度条件下白兰瓜果实细胞膜透性

Fig.1 Change of membrane permeability of 'Honey Dew' muskmelon with time stored at different temperatures

2.2 温度对甜瓜果实K⁺、Na⁺、Ca²⁺外渗的影响

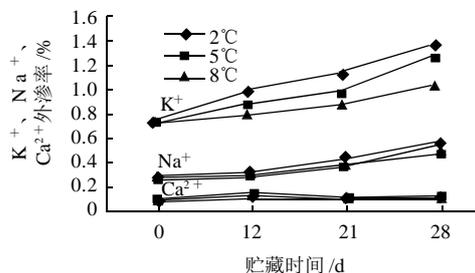


图2 不同温度白兰瓜果实K⁺、Na⁺、Ca²⁺外渗率

Fig.2 Leakage of K⁺, Na⁺ and Ca²⁺ of 'Honey Dew' muskmelon stored at different temperatures

如图2所示, K⁺的外渗率随着贮藏期的延长和温度的降低而增加。2℃条件果实K⁺的外渗率最大,贮藏期末达到1.37%; 8℃贮藏果实K⁺的外渗率最小,贮藏期末较2℃贮藏果实的低0.325%。在整个贮藏期Na⁺外渗率也表现为逐渐增大的趋势,贮藏12d时,3个处理Na⁺外渗率变化平缓,随后2℃贮藏果实Na⁺外渗率迅速增加,并超过5℃和8℃的,贮藏期末是0.67%,较8℃贮藏果实的高27.00%;在21d,5℃贮藏果实Na⁺外渗率急剧增加,28d时Na⁺外渗率较21d的高57.16%。如图2所示, Ca²⁺的外渗率不随温度和时间延长出现规律的变化,且其外渗率极低; 2℃、28d时的外渗率仅为K⁺的0.079%, Na⁺的0.162%。

2.3 细胞膜透性与 K⁺、Na⁺、Ca²⁺ 外渗率的相关性

表 1 不同温度条件下甜瓜果实细胞膜透性与 Na⁺、K⁺、Ca²⁺ 外渗率的相关性

Table 1 Correlation of membrane permeability and the leakage ratio of Na⁺, K⁺ and Ca²⁺ at different temperatures

| 贮藏温度/℃ | 回归方程与相关系数 | | |
|--------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| | K ⁺ | Na ⁺ | Ca ²⁺ |
| 2 | y=0.0172x + 0.1044 R ² =0.9863 | y=0.0098x - 0.1023 R ² =0.8072 | y=0.00009x + 0.1016 R ² =0.0261 |
| | y=0.0158x + 0.1534 R ² =0.9819 | y=0.0103x - 0.1007 R ² =0.9227 | y=0.0009x + 0.0792 R ² =0.4322 |
| 5 | y=0.0156x + 0.1535 R ² =0.9316 | y=0.0109x - 0.1042 R ² =0.9022 | y=0.002x + 0.0385 R ² =0.4302 |
| | | | |

注: y 表示 Na⁺、K⁺、Ca²⁺ 外渗率, x 表示相对电导率。

如表 1 所示, 3 种贮藏温度下, 细胞膜透性与 K⁺ 和 Na⁺ 的外渗率呈直线相关性, 且随 K⁺ 的变化速率大于随 Na⁺ 的变化速率。Ca²⁺ 的外渗量与细胞膜透性的相关性较低。

3 讨论

生物膜是生物体的细胞及细胞器与环境间的一个界面结构, 它既能接受和传递环境信息, 又能对环境胁迫做出反应, 同时生物膜在保持生物体的正常生理生化过程的稳定性上具有重要意义^[12]。冷敏感型植物冷害的第一反应被认为是膜物理相的改变^[1-2]。植物体遭受冷害时, 细胞膜脂的物理相从液晶相变为凝胶相, 膜脂上的脂肪酸链由无序排列变为有序排列, 膜结构的完整性遭到破坏, 产生孔道和龟裂, 从而使细胞膜选择透过性机能降低, 细胞内物质大量外渗, 最终破坏细胞的正常代谢^[1,13]。

本实验结果表明, 甜瓜果实遭受冷害后, 其细胞膜透性增加, 且温度越低增加程度越大, 表明对膜的伤害越严重。K⁺ 的外渗率随温度的降低而增大, 这是由于温度越低, 细胞膜的完整性破坏越严重, 进而加大了细胞内 K⁺ 大量外渗。细胞膜透性的增大与 K⁺ 的外渗率呈显著正相关, 在 2℃ 和 5℃ 条件相关系数分别为 0.807 和 0.930。Lieberman^[11] 也认为冷害温度下甘薯电导值得增大是由于 K⁺ 外渗的增加而引起的。

本实验中 Na⁺ 外渗率随贮藏时间的延长而增加, 从 21d 开始贮藏温度越低 Na⁺ 外渗率越大, 且 Na⁺ 外渗率与细胞膜透性的增加呈现显著正相关, 在 2℃ 和 5℃ 条件下相关系数分别为 0.835 和 0.802。这与 Lieberman^[11] 在甘薯上的结果不一致, Lieberman^[11] 认为在甘薯的冷害组织和非冷害组织 Na⁺ 外渗量是一样的。这种结果上的差异可能与试验材料不同有关。2℃ 28d 时外渗率仅为 K⁺ 的 0.079%。在结冰伤害后的洋葱表皮细胞上, Plata^[14] 测得 Ca²⁺ 的外

渗量仅为 K⁺ 量的 0.1%, 可以进一步认为, 冷害或冻害对细胞造成伤害后, Ca²⁺ 的外渗率极低。且本实验中 Ca²⁺ 的外渗率不随贮藏温度和时间发生规律性变化。

以生物膜结构功能的变化来研究植物抗冷机理研究正处于快速发展阶段, 目前的研究已经证明了生物膜结构和膜结合酶活力与抗冷性有关, ATPase 是一种转运细胞膜内外多种离子(K⁺、Na⁺、Ca²⁺ 等)的酶, 一般位于细胞膜上, 被称为膜结合功能性蛋白质。质膜上的 ATP 酶的失活, 可能是低温伤害的原初反应部位^[12]。Plata^[14] 认为质膜上的 ATP 酶的主动运输功能的丧失, 可能是造成 K⁺ 外渗的主要原因。

因此, 在甜瓜贮藏中宜从如何提高或维持细胞膜物理相的稳定为出发点, 合理采用间歇升温、气调贮藏、热处理等采后处理措施, 增加果实的抗逆性, 延长保鲜期。限于本实验仅研究细胞膜透性和 K⁺、Na⁺ 和 Ca²⁺ 的外渗率相关性, 其他一些离子(Mg²⁺、Al³⁺ 等)在冷害发生时外渗率如何变化以及与细胞膜透性的关系尚有待于进一步的研究。

4 结论

4.1 甜瓜果实在 2℃ 和 5℃ 贮藏条件下发生冷害, 其细胞膜透性增加, 且温度越低增加越大, 表明对膜的伤害越严重。

4.2 K⁺ 的外渗率随温度的降低和贮藏时间的延长增大; Na⁺ 外渗率随贮藏时间的延长而增加, 21d 后贮藏温度越低 Na⁺ 外渗率越大; Ca²⁺ 的外渗率极低, 且温度和贮藏时间对其影响不大。

参考文献:

- [1] LYONS J M. Chilling injury in plants[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1973, 24: 445-466.
- [2] 王毅, 杨宏福, 李树德. 园艺植物冷害和抗冷性的研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(3): 239-244.
- [3] 陈发河, 张唯一, 吴光斌. 变温处理后甜椒果实对低温胁迫的生理反应[J]. 园艺学报, 1994, 21(4): 351-356.
- [4] 段学武, 庞学群, 张昭其. 草菇低温贮藏及有关生理变化研究[J]. 热带作物学报, 2000, 21(4): 75-79.
- [5] 林河通, 傅虬声, 洪启征. 橄榄果实的冷藏适温与冷害初报[J]. 福建农业大学学报, 1996, 25(4): 485-489.
- [6] 周云, 季作梁, 林伟振. 龙眼冷藏适温及其冷害的研究[J]. 园艺学报, 1997, 24(1): 13-18.
- [7] 席屿芳, 余挺, 钱冬梅. 茄子果实冷害生理的研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(3): 303-305.
- [8] 潘永贵, 李正国. 变温处理对黄瓜果实生物膜保护系统的影响[J]. 热带作物学报, 2003, 24(2): 30-33.
- [9] 季作梁, 张昭其, 王燕, 等. 芒果低温贮藏及其冷害的研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(2): 111-116.
- [10] 李丽萍, 韩涛. 果蔬采后冷害的控制[J]. 北京农学院学报, 1998, 13(3): 122-130.
- [11] LIEBERMAN M, CRAFT C C, AUDIA W V, et al. Biochemical studies of chilling injury in sweetpotatoes[J]. Plant Physiology, 1958, 33(5): 307-311.
- [12] 王洪春. 植物抗性生理[J]. 植物生理学通讯, 1981(6): 72-81.
- [13] 刘全生. 香蕉冷害及防寒技术[J]. 福建热带作物科技, 2001, 26(4): 14-15.
- [14] PALTA J P, LEVITT J, STADELMANN E J. Freezing injury in onion bulb cells[J]. Plant Physiology, 1977, 60: 393-397.