

秋冬季节柿属植物树体内酚类物质含量的变化

冷平 张国军 吴晓云 齐建勋

(中国农业大学园艺学院)

摘要 本测试结果表明, 原产日本中部的栽培柿‘富有’(*D. iospyros kaki* cv. Fuyou)的抗寒性为(-25 ± 0.7), 而原产于亚热带台湾的台东豆柿(*D. taitoensis*)的抗寒性仅为(-18 ± 0.6)。试材枝内酚类物质总含量在9~11月中旬上升至最大值, 富有柿增加了0.7倍, 台东豆柿增加了0.8倍。此后至2月中旬维持在较高水平, 3月中旬以后迅速下降。9~11月中旬富有柿枝内黄酮类物质含量显著上升了近4倍, 台东豆柿增加了近1倍; 此后至2月中旬维持在较高水平, 3月中旬以后迅速下降。2树种枝条皮层中的酚类物质总含量分别为其木质部的5倍左右。酚类物质的大部分为缩合型单宁, 其含量变化曲线近似于酚类物质总含量的曲线。试材枝内简单酚类物质和可溶性单宁含量极低, 且在秋冬季节无显著变化。与富有柿相比, 台东豆柿枝内酚类物质中简单酚类物质比例高, 而缩合单宁含量所占比例较低。结果显示, 柿属植物树体内酚类物质组成及含量与其抗寒力的获得有一定关系。

关键词 柿; 酚类物质; 黄酮类物质; 低温驯化; 抗寒性

分类号 S665.2; S945.78

Change of Phenols in Persimmon During Autumn and Winter

Leng Ping Zhang Guojun Wu Xiaoyun Qi Jianxun

(College of Horticultural Science, CAU)

Abstract Experiments were conducted to investigate the phenols content and cold resistance of *D. iospyros kaki* distributed in Japan and *D. taitoensis* distributed in subtropical Taiwan. The results showed that lethal temperature to *D. kaki* was (-25 ± 0.7), and the lethal temperature to *D. taitoensis* was (-18 ± 0.6). The content of total phenols increased from September and reached its peak level in mid-November (0.7 times and 0.8 times increased respectively in *D. kaki* and *D. taitoensis*) and then decreased from mid-February. The content of flavonoids increased 4 times and 1 time respectively in *D. kaki* and *D. taitoensis* from mid-September to mid-November, and then decreased from mid-February. The contents of total phenols in cortexes were 4 times higher than that in xylem. The largest amount of phenols was condensed tannins, and its changes were the same as changes in total phenols. The content of simple phenols and hydrolyzable tannins were very low and their variations were not significant during autumn and winter. The rate of simple phenols to total phenols in *D. taitoensis* was higher than that in *D. kaki*, but the rate of condensed tannins to total phenols in *D. taitoensis* was lower than that in *D. kaki*.

收稿日期: 2000-04-07

北京市自然科学基金资助项目(S9702)

冷平, 北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区), 100094

Key words *Diospyros kaki* cv. Fuyou; *D. taitoensis*; phenols; flavonoids; cold acclimation; cold resistance

柿属植物(*Diospyros*)中的栽培柿*D. kaki*起源于我国南部亚热带森林^[2],经过数千年的选择和驯化,在获得了休眠性和抗寒性后逐渐北移,在我国北部也能栽培。以后又于7世纪传入日本,14世纪传入朝鲜,17世纪传入欧洲,18世纪以后才逐渐分布于全世界。现在,中国和日本共有柿品种1000多个,韩国约有200个左右。此外,意大利、以色列、巴西等国家近年也培育了一些新品种^[3~5],柿子越来越被更多国家所接受。然而,在柿子栽培的北线,冻害问题相当严重,低温成为限制北部地区柿子生产的重要因素。

近年发现,酚类物质在植物的抗逆生理中有重要作用,可作为植物抗寒的有效生理指标^[6];在低温驯化条件下,果树体内酚类物质代谢异常活跃。如,作为强还原性酚类物质的花青苷含量显著增加^[7~9],表明秋冬季节的酚类物质代谢与果树抗寒力的获得有一定关系。长期以来,对多酚在植物逆境中作用的研究主要集中在病原体 and 害虫上,而对其低温逆境的保护作用尚未见报道。

本试验调查了栽培柿富有及台东豆柿秋冬季树体内酚类物质含量的变化,为进一步研究酚类物质的抗低温逆境生理作用提供基础数据。

1 材料与方法

本试验于1994-09~1995-04在日本岛根大学完成。

1.1 材料

供试材料为日本岛根大学校内果园栽植的成年栽培甜柿品种‘富有’(*D. kaki* cv. Fuyou, 日本岐阜县原产)和‘台东豆柿’(*D. taitoensis*, 台湾地区原产)。

1.2 方法

从供试树上采取1年生成熟枝条若干,做以下处理。

1.2.1 抗寒性的测定 将每种枝条分成8组,每组25根,放入程控冰箱内。从5℃开始,每小时降温5℃,在每个设定温度停留4h后取样并继续降温,直至降温至-35℃。

将上述各处理后的枝条放在室温18℃处,24h后用10根枝条测定其电解质渗出率^[10],其余15根枝条进行水培,20d后观察芽的萌芽率及枝、芽组织褐变情况,判定以电解质渗出率达50%时的处理温度作为试材的抗寒性是否合适,并根据其他形态指标进行枝条抗寒性的综合判定。

电解质渗出率的测定 剪取中上部枝段,剪成0.5cm长后称取5g放入150mL三角瓶中,加入重蒸馏水40mL,封口膜封口。12h后测定电导值 C_1 ,然后加盖煮沸30min,取出再静置12h后测定电导值 C_2 ,3个重复。电解质渗出率= $C_1/C_2 \times 100\%$ 。

1.2.2 酚类物质的分离与测定^[11] **酚类物质的抽提** 取枝条中上部枝段的皮层5g,剪碎后用50mL 80%的甲醇浸提24h。过滤后将残渣用50mL 80%的甲醇再浸提24h。过滤后将2次抽出液混合并取液50mL进行减压浓缩除去甲醇,将剩下的水溶液用5mL的石油醚进行3次抽取,以除去色素及脂质。将剩下的水溶液用蒸馏水定容至25mL,用于测定酚类物质的含量。

酚类物质的分离 用稀盐酸将粗提液的 pH 值调至 3.5。取 1 mL 的试液加入 1 mL 的饱和硫酸锌可宁溶液, 10 min 静置后, 以 3 000 g 离心 10 min。向上述所得沉淀中加入 1 mL 半饱和硫酸锌可宁溶液, 充分混合 10 min 后, 以 3 000 g 离心 10 min。将 2 次所得的上清液合并, 用蒸馏水定容至 10 mL 称之为(1)液。取(1)液 2 mL, 加入 2 mL 的盐酸-水混合液(1:1), 再加入 0.8% 的甲醛溶液 1 mL, 然后放入 30℃ 恒温箱中反应 24 h。另外, 向上述沉淀中加入 2 mL 的乙醇-盐酸混合液(2:2)并使之溶解, 再加入 0.8% 的甲醇 1 mL, 然后放入 30℃ 恒温箱中反应 24 h。反应后, 将上述 2 种溶液分别进行离心分离并分别用蒸馏水定容至 10 mL, 称之为(2)液和(3)液。将上述(1)(2)(3)液用 Folin-Ciocalteu 方法进行酚类物质含量的测定。(2)为简单酚; (3)为可溶性单宁; (1)-(2)= 黄酮类物质; 酚总量-(1)-(3)= 缩合型单宁。

上述 4 种酚类物质的测定 取上述试液 1 mL (以蒸馏水为对照), 加蒸馏水 6 mL, 再加入酚试剂 0.5 mL 摇匀后静置 3 min, 再加入饱和碳酸钠 1 mL, 最后加入 1.5 mL 蒸馏水, 1 h 后用分光光度计在 725 nm 处测定吸光度。

2 结果与分析

2.1 2 种栽培柿的抗寒性比较(图 1)

本试验对供试材料进行梯度温度处理, 再经水培后调查其萌芽率及组织褐变情况, 证明电解质渗出率达 50% 时的处理温度作为试材的抗寒性是适宜的。

原产日本中部岐阜地区的富有柿以及原产亚热带台湾地区的台东豆柿都表现为从 9 月起抗寒性逐渐增强, 到 1 月中旬达到最大值, 到 3 月份抗寒性迅速下降。富有柿的抗寒性为(-25±0.7), 而台东豆柿的抗寒性仅为(-18±0.6)。

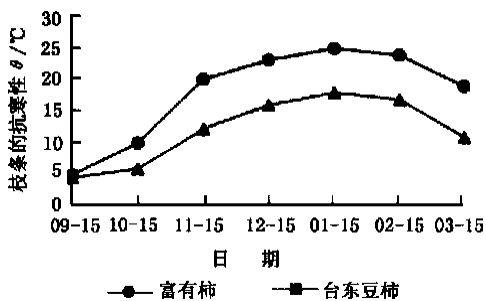


图 1 供试柿树体抗寒性(枝条电解质渗出率达 50% 时的温度)的变化

2.2 2 种柿枝内酚类物质总含量的季节变化

如图 2 所示, 富有柿和台东豆柿枝条中酚类物质总含量从 9 月份开始上升, 到 11 月中旬达到最大值, 富有柿增至约 1.7 倍, 台东豆柿增至约 1.8 倍。此后酚类物质总含量基本上保持在较高水平上, 从 3 月中旬开始下降。富有柿和台东豆柿枝条皮层中的酚类物质总量分别为其

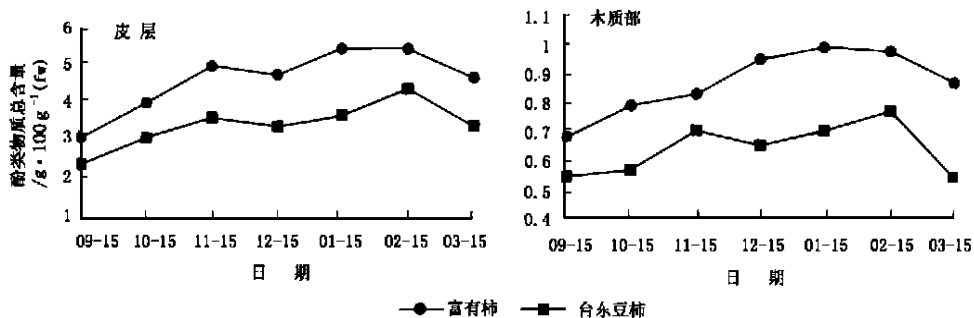


图 2 柿树枝内酚类物质总量的季节变化

木质部的5倍左右。

2.3 供试枝条皮层内酚类物质含量的季节变化

将酚类物质分成简单酚、不含单宁的黄酮类物质、可溶性单宁及缩合型单宁4种成分,对这4种成分的测定结果表明,从秋至冬,栽培柿富有皮层内黄酮类物质含量迅速上升,冬天的最高含量约是初秋9月份的近5倍(图3)。简单酚及可溶性单宁在树体内含量极低,秋冬季节未表现出显著性变化。酚类物质总含量的大部分为缩合单宁,其含量在秋冬季的变化动态基本与总酚含量相同(表1)。

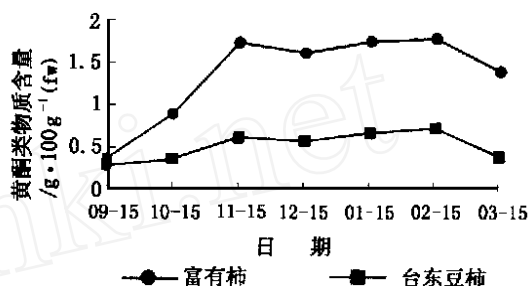


图3 供试柿树枝条皮层内黄酮类物质含量的季节变化

表1 富有与台东豆柿枝条皮层内酚类物质含量的季节变化 /g·100g⁻¹(fw)

测试项目	日期							
	09-15	10-15	11-15	12-15	01-15	02-15	03-15	
富有柿	简单酚类	0.012	0.015	0.018	0.016	0.019	0.021	0.014
	黄酮类	0.36	0.88	1.73	1.60	1.74	1.78	1.40
	可溶性单宁	0.009	0.011	0.013	0.009	0.011	0.012	0.009
	不溶性单宁	2.62	2.94	3.00	2.92	3.41	3.39	3.09
	总酚	3.01	3.85	4.76	4.54	5.18	5.20	4.51
台东豆柿	简单酚类	0.050	0.060	0.069	0.060	0.070	0.080	0.060
	黄酮类	0.28	0.36	0.60	0.56	0.66	0.72	0.40
	可溶性单宁	0.014	0.018	0.016	0.014	0.018	0.020	0.016
	不溶性单宁	2.00	2.56	2.79	2.66	2.80	3.41	2.85
	总酚	2.34	3.01	3.47	3.29	3.55	4.23	3.33

台东豆柿枝条皮层中的上述4种物质的变化动态大体与富有相同,但与富有相比,台东豆柿皮层中的简单酚类物质所占比例较大,而缩合单宁所占比例相对较少;从秋至冬台东豆柿皮层中黄酮类物质增加了1倍左右,增幅低于富有柿。简单酚及可溶性单宁在树体内含量极低,秋冬季节未表现出显著变化。

3 讨论

日本的柿子多为盛唐时期从中国大陆传入,经改良而成为现在的柿品种^[3-5]。日本的地形南北跨度大,从鹿儿岛到新泻,冬季的气温差相当大,在北部地区只有少量抗寒性强的涩柿品种栽培。本试验测得原产日本中部地区,日本甜柿的代表品种富有的抗寒性在-25左右,与姜成求、杉浦明^[12]等的研究结果相同。

酚类物质是植物苯丙烷类代谢过程中产生的次生代谢产物。秋冬季节酚类物质多积聚于树体韧皮部,其中的黄酮类物质含量急剧升高可能与其具有清除活性氧功能有关。秋冬季节的低温胁迫条件可造成活性氧在树体内的积累,而黄酮类物质上的羟基具有强的供电子能力,能

以单电子转移的方式清除 O_2^- 或其他自由基^[13]。清除或控制由低温逆境所产生的生物自由基可能是酚类物质保护植物机体免受损伤的重要机理之一^[14~17]。然而,植物体内酚类物质结构复杂,种类繁多,是哪些种类在树体抗低温逆境中起主要作用,其生理生化的机制如何等问题还有待今后进一步研究。

参 考 文 献

- 1 牟云官,曲泽州,孙云蔚 果树种类论 北京:农业出版社,1990,244~253
- 2 Ng F S P. The origin of *Diospyros lotus* and other notes on the genus *Diospyros* (Ebenaceae). Malaysian forester 1979, 42: 165~170
- 3 杉浦 明 果树园艺ハンドブック. 东京:养贤堂,1991,412~413
- 4 池上隆雄 栽培柿の起源に関する形態学的研究 大阪学芸大学纪要,1964,B-13: 151~202
- 5 杉浦 明 カキの起源と品種分化 见:日本育种学会编 育种学最近の进步. 东京:养贤堂,1983,25: 30~37
- 6 Chalker-Scott L. Spectrophotometric measurement of leached phenolic compounds as a indicator of freeze damage. J Amer Soc Hort Sci, 1989, 114(2): 315~319
- 7 Leng P, Itamura H, Yamamura H. Freezing tolerance of several *Diospyros* species and kaki cultivars as related to anthocyanin formation. J Japan Soc Hort Sci, 1993, 61(4): 795~804
- 8 Leng P, Itamura H, Yamamura H. Changes of phenylalanine ammonia-lyase (PLA) activity in twig tissues of two *Diospyros* species during cold acclimation, Environ Control in Biol, 1995, 33(1): 43~48
- 9 Leng P, Itamura H, Yamamura H, Deng X M, Anthocyanin accumulation in apple and peach shoots during cold acclimation. Scientia Horticulturae, 1999, 83: 43~50
- 10 孙秉钧,黄礼林,李树玲,等 利用电解质渗出率方法测定梨的抗寒性 中国果树,1987,(1): 15~18
- 11 伊藤三郎,松尾友明,饭伏雄二,玉利信人. グアバに含まれるポリ左-ノルの消長とその特性. 园艺学会杂志(日),1987,56(1): 107~113
- 12 姜成求,本杉日野,米森敬三,杉浦 明 示差热分析によるカキ冬芽の耐冻性の評価について. 日本园艺学会杂志,1993,62(别2,园艺学会大会论文集): 188~189
- 13 罗广华 植物中的多酚物质对超氧化物自由基的清除作用 热带亚热带植物学报,1994,2(4): 95~99
- 14 沈曼 植物抗寒机质研究进展 植物学通报,1997,14(2): 1~8
- 15 Shen S R, Yang X Q, Yang F J. Coordinatingly synergic effect of catechins during their antioxidation. J Tea Sci, 1993, 13(2): 141~146
- 16 Shen S R, Zhao Y F, Yang X Q. Mechanism of tea polyphenols on protective actions of biomacromolecule against free radicals. J Zhejiang Agricultural University, 1995, 21(4): 361~365
- 17 Wang B S. Biological free radicals and membrane damage of plants. Plant Physiology Communications, 1988, (2): 12~16