

套袋对巨峰葡萄果实糖分变化及转化酶活性的影响

周兴本¹, 张亚文¹, 于文越¹, 郭修武²

(1. 沈阳农业大学 高等职业技术学院 辽宁 沈阳 110122; 2. 沈阳农业大学 园艺学院 辽宁 沈阳 110161)

摘要:以巨峰葡萄为试材, 研究套袋对葡萄果实中糖代谢及转化酶活性的影响。结果表明: 套袋果实在发育过程中蔗糖、葡萄糖、果糖含量和转化酶活性变化趋势与对照基本一致。果实成熟后套袋果的可溶性总糖含量明显高于对照。在果实发育前期, 套袋明显改变果实中蔗糖的相对含量及酸性转化酶活性。套袋可能主要是通过影响果实发育早期转化酶活性来影响果实糖分积累。

关键词: 葡萄; 果实套袋; 糖含量; 转化酶活性

中图分类号: S 663. 105⁺. 9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0008-03

葡萄套袋是目前生产优质无公害葡萄, 提高葡萄商品价值的一种重要栽培措施。果实生长期套袋改变了果实周围的微域环境, 从而对果实的生长发育及品质的形成产生特定影响^[1,2]。目前对葡萄套袋的一些研究表明, 套袋不仅可以显著提高果实的外观品质, 而且可以不同程度地影响果实的可溶性固形物、有机酸、含糖量等内在品质^[3,5]。但对于套袋影响葡萄果实中具体糖分构成的研究却少见报道。蔗糖是葡萄韧皮部糖分运输的主要形式, 它在进入果实后被迅速代谢, 在幼果期转化为糖、有机酸及结构物质等。成熟期则主要分解为葡萄糖和果糖, 积累在细胞内^[6,7]。所以蔗糖的代谢转化对葡萄品质的形成有十分重要意义, 而套袋则可能通过改变果实(穗)的微域环境而对体内碳水化合物运输及转化产生了某些影响, 进而表现为各种具体糖分的变化。因此有必要对套袋后葡萄果实不同糖分的动态变化进行进一步的深入研究。现以巨峰葡萄为试材, 研究套袋对葡萄糖分组成及转化酶活性的影响, 以期葡萄优质栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试材和取样

选用沈阳农业大学葡萄园生长一致的3a生巨峰葡萄作试材, 株行距为0.5 m×5 m, 单蔓整枝, 小棚架栽培, 试验于2003年6~10月进行。纸袋为国家农产品保鲜中心生产的红地球葡萄专用袋(透光率40%), 于盛花后20d即7月1日套袋。采用5株为一小区, 随机区组

设计, 重复3次。在树体健壮, 负载量基本一致的树上选一穗做套袋处理, 另选一穗大小一致的不套袋果(挂牌标记)作为对照。套袋前人工疏花疏果, 控制合理负载量, 每株留果5~6穗, 其他管理为常规管理。套袋后每隔10d取样1次。采样时分别从套袋和对照两果穗上随机选取大小一致果粒15粒, 用冰壶迅速带回实验室, 液氮处理-80℃超低温冰箱保存备用。

1.2 葡萄糖、果糖、蔗糖测定

参照张友杰^[8]方法取样重复3次, 每个样品测2次, 取均值。

1.3 转化酶活性测定

酶的提取: 参照Nielsen等^[9], 王惠聪等^[10]的方法稍做改进。取样重复3次, 每样测定2次取均值。每个样本取1g果肉, 加入5mL预冷的提取缓冲液[0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.5), 5 mmol/L MgCl₂, 1 mmol/L EDTA, 0.1%巯基乙醇, 0.1% Triton-100, 2% PVPP]冰浴下匀浆后, 10 000 r/min离心15 min, 上清液倒入10 mL刻度试管, 沉淀用4 mL的提取液再提取1次, 合并上清液定容至10 mL作为酶提取液。

中性转化酶: 取0.2 mL酶提取液加入到0.8 mL的反应液[0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.5), 0.1 mol/L蔗糖]中, 在37℃培养箱孵育1 h后沸水浴5 min终止反应。用3,5-二硝基水杨酸法测定还原糖含量; 另取0.2 mL酶提取液沸水浴15 min作为对照。用两者的差值来计算还原糖产生速率。转化酶的活性单位为 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \text{FW}$ 。

酸性转化酶: 取0.2 mL酶提取液加入到0.8 mL反应液中(0.1 mol/L蔗糖, 0.1 mol/L Na₂HPO₄-柠檬酸的缓冲液 pH 4.8), 其余操作同上。

2 结果与分析

2.1 果实糖分含量动态变化

对不同发育时期的葡萄果实糖含量测定结果表明

第一作者简介: 周兴本(1977-), 男, 硕士, 主要从事园艺栽培生理研究。E-mail: zhouxingben@163.com。

通讯作者: 郭修武。

基金项目: 沈阳农业大学青年教师科研基金资助项目(2005060)。

收稿日期: 2007-09-01

(图 1): 套袋和对照葡萄果肉组织中, 糖含量及构成随果实的发育而变化。在果实的整个发育期间, 果实套袋处理与对照相比可溶性总糖含量变化趋势相似。巨峰葡萄果实可溶性总糖含量在 7 月 31 日之前变化不大, 之后开始迅速上升, 至 8 月 31 日升至最高点, 果实中糖含量

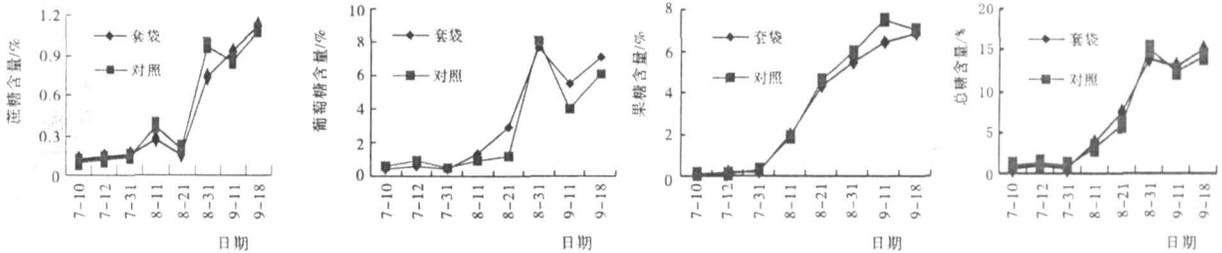


图 1 巨峰葡萄套袋后果实各种糖含量动态变化

从糖的类型来看, 随果实的发育, 蔗糖、葡萄糖、果糖 3 种糖含量基本上均呈上升趋势。在巨峰葡萄品种中(图 1), 对蔗糖而言, 套袋处理与对照相比, 二者蔗糖含量的变化规律基本一致, 但在 8 月 11 日和 8 月 31 日时对照的蔗糖含量明显高于套袋, 达到极显著水平。对葡萄糖而言, 在果实发育前期, 套袋与对照的葡萄糖含量均处在一个较低的水平, 但对照却显著高于套袋。8 月 11 日套袋处理葡萄糖含量开始迅速上升, 到 8 月 21 日极显著高于对照。二者均于 8 月 31 日达到最高点, 之后迅速下降, 到采收时对照果实的葡萄糖含量显著低于套袋处理。对果糖而言, 在巨峰葡萄果实整个生长发育过程期间, 对照果实的果糖含量一直高于套袋处理, 并分别在 8 月 21 日和 9 月 11 日达到显著水平。由此可见, 葡萄套袋处理可以对果实不同发育时期的糖分组成产生不同影响。

2.2 果实转化酶活性动态变化

为探讨套袋处理对果实糖代谢的影响, 测定了套袋

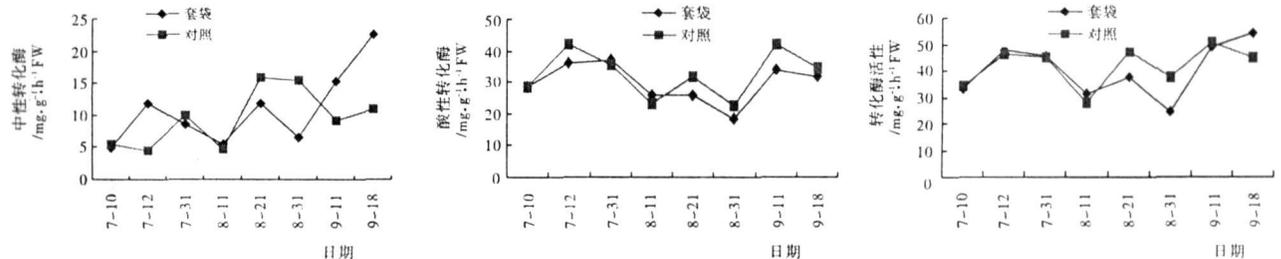


图 2 果实套袋对巨峰葡萄果实中转化酶活性变化的影响

对果实 NI 活性而言(图 2), 巨峰葡萄果实在 8 月 11 日之前, 套袋处理 NI 活性要稍高于对照果, 之后, 对照果 NI 活性迅速升高, 维持在较高水平, 后又稍有下降, 直至采收。而套袋处理于 8 月 31 日开始 NI 活性迅速上升, 至采收时极显著高于对照。由于果实 NI 活性在整个生长期都处于较低水平, 显著低于 AI 活性, 所以对总转化酶活性的影响不大。

积累达到最多。此后一直到果实采收, 总糖含量变化不大, 一直维持在较高水平。在巨峰果实发育整个期间, 套袋处理和对照的果实可溶性总糖含量变化规律基本一致, 只在采收时套袋处理的果实可溶性总糖含量稍微高于对照, 但并未达到显著性水平。

后不同时期果肉中转化酶活性的变化, 转化酶包括酸性转化酶(AI)和中性转化酶(NI)两类, 其活性随果实的发育而发生变化。图 2 表明, 在果实整个发育过程中, 套袋和对照果均显示出很高的 AI 活性。在巨峰葡萄果实发育前期, AI 活性一直较高, 进入转熟期后 AI 活性开始逐渐下降, 在 8 月 31 日达到最低点, 与此同时蔗糖占总糖的比例也基本处于最低点, 在 4%~5%之间, 而还原糖占总糖的比例却达到最高点, 在 96%~97%之间。之后, AI 活性开始上升, 在采收前升至最高, 随后略有下降直至采收。期间, 还原糖占总糖的比例一直维持在较高水平, 蔗糖占总糖的比例维持在较低水平, 二者均无较大幅度变化。从 8 月 11 日开始, 对照果的 AI 活性一直高于套袋处理, 且在 8 月 31 日达到显著水平, 而其他时期均未达显著差异, 直到采收。在此期间, 对照果的还原糖、总糖含量略高于套袋处理, 变化趋势基本一致, 未有显著性差异。

3 小结与讨论

糖的积累是果实品质形成的关键, 而蔗糖代谢又是糖积累的重要环节。糖卸载到果实中在很大程度上取决于果实的库强, 库强大小的一个重要的生化标志就是与糖代谢有关的关键酶活性^[6, 11-12]。吕英民等认为转化酶是衡量果实库强的一个重要生化标志^[13]。可见转化酶在决定蔗糖分配中起至关重要的作用。研究结果表

明果实套袋后, 果肉中的可溶性总糖含量比对照有了明显的提高(图1)。这与刘晓海^[3]、王少敏^[9]等的研究结果一致。套袋对葡萄果实中具体糖分的影响不尽相同, 对蔗糖和葡萄糖影响较大, 而对果糖影响较小, 并且显著影响了果实生长前期的蔗糖占总糖和蔗糖占还原糖的比例。在9月11日时对照和套袋果的葡萄糖含量有较明显的下降, 这可能与树龄, 取样等因素有关, 还需继续试验进一步研究。同样的现象也出现在红地球品种上^[14]。糖分比例的变化与套袋影响了果实中转化酶活性可能有一定关系。测定结果显示, 果实套袋处理后, 在转熟期之前果实中转化酶活性有了显著提高, 表明在缺光逆境中, 果实通过提高酶活力来提高库强度, 果实库强度增强的同时相应的叶片中同化物分配到果实的比例也增多。幼果套袋后使果实的光合作用减弱, 自身产生的光合产物减少, 从而可能需提高转化酶及相关酶活性, 分解更多蔗糖来维持较高库强, 提供较多能量物质来完成结构物质构建。这与陈俊伟等^[15]在柑橘上的研究结果相似。因此, 套袋后果实自身光合作用减弱, 其碳水化合物的供给只能更多地靠叶片供应, 为此果实可能通过调节转化酶等蔗糖代谢相关酶基因的表达, 提高自身酶活力水平, 增强库强度, 以确保碳水化合物的供应。幼果期果实中有较高的酶活性而此时果实中糖含量却较低, 可能是因为幼果中旺盛的新陈代谢和细胞分裂消耗的物质能量较多, 叶片运来的蔗糖被较大比例的迅速分解, 用于构建各种细胞器, 细胞壁和细胞液成分, 所以各种糖分的积累很少。果实进入转熟期以后, 果皮逐渐着色, 自身光合作用减弱乃至丧失, 酸性转化酶活性趋向平缓, 但仍保持很高的活力, 这与 Davies 和 Robison^[6]研究在葡萄果实发育的全过程中酸性转化酶活力均维持在较高水平的结果一致。此后, 还原糖含量迅速上升, 占总糖的比例有了明显的升高达 95% 左右, 以后均维持在此水平, 且套袋与对照差异不明显。

综上所述, 果实套袋后可影响转化酶活性, 进而影

响果实中糖的积累及糖组分构成的变化。但蔗糖代谢的关键酶还有蔗糖合成酶(SS)和蔗糖磷酸合成酶(SPS), 因此推测套袋也可能影响 SS 和 SPS 活性变化, 通过转化酶、SS 和 SPS 共同作用来调控糖的代谢积累, 这还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 李秀菊, 刘用生, 束怀瑞. 红富士苹果套袋果实色泽与激素含量的变化[J]. 园艺学报, 1998, 25(3): 209-213.
- [2] 卜万锁, 牛自勉, 赵红钰. 套袋处理对苹果芳香物质含量及果实品质的影响[J]. 中国农业科学, 1998, 31(6): 88-90.
- [3] 刘晓海, 马文会, 刘承晏. 套袋对巨峰葡萄着色和含糖量的影响[J]. 河北林果研究, 1998, 13(1): 69-71.
- [4] 黄喜明, 寇书莲. 葡萄套袋实用技术[J]. 中国果菜, 2002(5): 45.
- [5] 王少敏, 高华君, 坂田良智. 葡萄套袋效果初报[J]. 落叶果树, 2001(1): 41-42.
- [6] Davies G, Robinson S P. Sugar accumulation in grape berries[J]. Plant Physiol, 1996, 111: 275-283.
- [7] Hawker J S. Changes in the activities of enzymes concerned with sugar metabolism during the development of grape berries[J]. Phytochemistry, 1969(8): 9-17.
- [8] 张友杰. 以蒽酮分光光度法测定果蔬中葡萄糖、果糖、蔗糖、淀粉[J]. 分析化学, 1994, 5(3): 167-170.
- [9] Nielsen T H, Skjærbek H G, Karlsen P. Carbohydrate metabolism during fruit development in sweet pepper plant[J]. Physiol Plant, 1991, 82: 311-319.
- [10] 王惠聪, 黄辉白, 黄旭明. 荔枝果实的糖积累与相关酶活性[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 1-5.
- [11] Vizzoto G, Pinton R, Varanini Z et al. Sucrose accumulation in developing peach fruit[J]. Physiol Plant, 1996, 96: 225-230.
- [12] Moniguchi T, Yamaki S. Purification and characterization of sucrose synthase from peach fruit[J]. Plant Cell Physiol, 1988, 29(8): 1361-1366.
- [13] 吕英民, 张大鹏. 果实发育过程中糖的积累[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(3): 258-265.
- [14] 周兴本, 郭修武. 套袋对红地球葡萄果实发育过程中糖代谢及转化酶活性的影响[J]. 果树学报, 2005, 22(3): 207-210.
- [15] 陈俊伟, 张上隆, 张良诚, 等. 柑橘果实遮光处理对发育中的果实光合产物分配、糖代谢与积累的影响[J]. 植物生理学报, 2001, 27(6): 499-504.

Effects of Bagging on the Sugar Metabolism and Invertase Activities in Kyoho Grape Berries during Fruit Development

ZHOU Xing-ben¹, ZHANG Ya-wen¹, YU Wen-yue¹, GUO Xiu-wu²

(1. Department of Vocational Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110122, China; 2. Department of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: Kyoho grape was used to study the effect of bagging on sugar metabolism and invertase activities. The results showed that sugar contents and invertase activities had almost the same changes as the control berries during fruit development. Compared with the control berries, the total sugar content in bagged berries was significantly higher at the late stage of fruit development. Fruit bagging was shown to change relative sucrose contents and acid invertase activities very greatly. The activities of invertase at the early stage influenced by bagging may be responsible for the accumulation of sugar in the bagged fruit.

Key words: Grape; Fruit Bagging; Sugar content; Invertase activities