

GA₃ 对葡萄果实淀粉积累及代谢相关酶活性的影响

李鹏程¹, 李 铭¹, 郁松林², 郭绍杰¹, 苏学德¹

(1. 新疆农垦科学院, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子大学 农学院, 新疆 石河子 832000)

摘 要:以 3 a 生全球红葡萄为试材, 研究了用不同浓度的赤霉素(GA₃)在花前、花后 2 次处理葡萄果穗后, 测定其对葡萄果实淀粉积累规律以及淀粉代谢酶活性的影响。结果表明:GA₃ 处理增加了葡萄果实可溶性糖积累速率, 蔗糖合成酶(SS)活性增加, 以 20 mg/L GA₃ 处理最为显著; 经 GA₃ 处理的果实前期淀粉含量有不同程度的增加, 总淀粉酶、 α -淀粉酶活性增大, 而对 β -淀粉酶无明显影响。因此, GA₃ 与淀粉积累调控机理之间存在密切的联系。

关键词:GA₃; 葡萄; 果实; 淀粉积累; 酶活性

中图分类号: S 663.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)11-0017-04

葡萄(*Vitis vinifera* L.)属于葡萄科(Vitaceae)葡萄属(*Vitis* L.)浆果植物, 是世界上重要的鲜食果品和加工原料, 深受人们喜爱, 其产量和品质的提高一直是葡萄生产和科学研究的重点。赤霉素(GA₃)作为一种高效的植物生长调节剂, 在葡萄无核化栽培^[1]、果实发育^[2-3]、单性结实^[4]、提高浆果品质^[5]等方面已得到广泛应用。因此, 在充分研究葡萄果实同化物积累的基础上, 可以找出有效外施植物生长调节剂和果实发育过程中营养物质的特性来改变其代谢和转化形式, 从而可以进一步改善葡萄的品质。

淀粉是植物体内最重要的储藏性多糖, 可在淀粉酶的作用下分解为 G-1-P, G-1-P 可以经过一系列生理生化反应后用于蔗糖的合成, 因此果实发育早期淀粉的积累可以为后期糖的合成储备碳源。淀粉酶属于水解酶类, 其活性受温度、pH 以及基因等因素的调控, 转基因种子中淀粉酶的活性比未转基因种子高^[6], 目前, 对激素对果实淀粉代谢的影响已有研究^[7-8], 但在葡萄上类似的报道较少, 有关 GA₃ 处理对葡萄淀粉含量及酶活的影响研究未见报道。该试验以全球红葡萄(*Vitis vinifera* L. cv. Red Globe)为试材, 分析葡萄浆果发育过程中可溶性糖含量、淀粉积累及相关酶活性的变化特点, 以期明确 GA₃ 参与葡萄淀粉积累的酶学机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以石河子大学农学院试验站标准葡萄示范园 3 a 生全球红葡萄为试材, 株行距为 1 m×3 m。植株生长健壮, 正常管理。

1.2 试验设计

试验设 4 个处理, 每个处理选取 10 棵长势一致的植株, 分别在花前 5 d(5 月 22 日)、花后 10 d(6 月 10 日)对葡萄果穗各喷施 1 次 GA₃, 清水处理为对照(CK); T1: 10 mg/L GA₃; T2: 20 mg/L GA₃; T3: 30 mg/L GA₃。GA₃ 购自美国 Sigma 公司。自从花后 25 d 开始每隔 10 d 采样 1 次, 至葡萄采收期前 7 d(9 月 3 日)结束, 每次采样时从各处理植株的上、中、下 3 个部位的 8~9 个果穗上采摘大小均匀的果实, 幼果期取 50 粒, 膨大以后每次采摘 30 粒, 冰盒带回实验室, 液氮速冻后贮于 -40℃ 冰箱中备用。

1.3 测试方法

可溶性糖的提取和测定采用蒽酮比色法^[9]。蔗糖合成酶活性的测定参照王惠聪等^[10]的方法。可溶性淀粉含量的测定采用旋光法^[9]。总淀粉酶和 α -淀粉酶活力采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定^[9], β -淀粉酶活力根据总淀粉酶和 α -淀粉酶活力差值求得。以上指标测定均在 0~4℃ 条件下进行, 并做 3 次重复。

1.4 数据分析

数据取平均值, 采用 Microsoft Excel 和 Spss16.0 进行数据处理、制图和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 GA₃ 处理对葡萄果实发育过程中可溶性糖和淀粉含量的影响

全球红葡萄果实生长发育过程中, 可溶性糖的含量

第一作者简介:李鹏程(1983-), 男, 硕士, 助理研究员, 现主要从事果树栽培与生理研究工作。E-mail: lpc830916@163.com。

责任作者:郭绍杰(1962-), 男, 本科, 副研究员, 现主要从事果树栽培与生理研究工作。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30760144); 新疆生产建设兵团科技局产学研专项资助项目(2010ZX02)。

收稿日期:2011-04-01

基本呈增长趋势。由图 1 可知,经处理的葡萄果实可溶性糖的变化趋势与对照相似。在幼果期,可溶性糖积累速率由快变慢,在花后 45 d 达到一个峰值,之后趋于缓和。转色(花后 45 d)完成后,各处理(T1、T2 和 T3)果实可溶性糖含量分别高于对照 7.13%、12.69% 和 4.67%,处理之间差异显著($P=0.05$),而 T2 与对照之间差异极显著($P=0.01$)。之后果实中可溶性总糖含量的积累速率减慢,直到果实成熟时(花后 95~105 d),可溶性糖含量最终上升到最高,之后几乎不再改变。在葡萄整个发育过程中,各处理糖积累速率明显高于对照,说明 GA_3 处理增加了可溶性糖的含量。

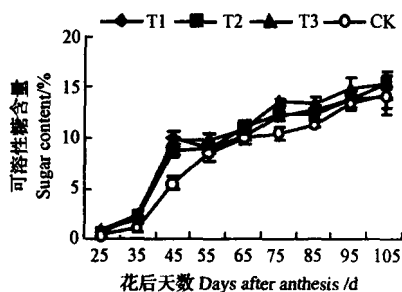


图 1 GA_3 处理对葡萄果实发育过程中可溶性糖含量的影响

Fig. 1 The effect of different concentration of GA_3 on sugar content of grape fruits

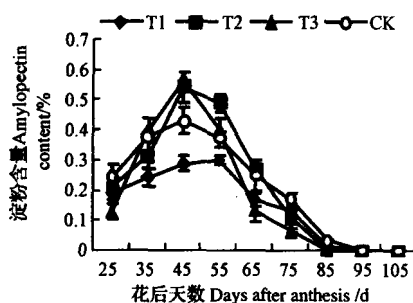


图 2 GA_3 处理对葡萄果实发育过程中淀粉含量的影响

Fig. 2 The effect of different concentration of GA_3 on amylopectin content of grape fruits

生长发育前期,淀粉含量不断积累,从花后第 25 天进入快速积累期,到第 45 天达到最高,随后快速下降,至采收前几乎完全降解。 GA_3 处理不影响葡萄果实的淀粉含量变化的总体趋势,但在发育前期可促进果实中淀粉的积累速率,在生长发育后期延缓果实中淀粉的降解。采收时, GA_3 处理果中淀粉含量几乎降为 0,对照果实中淀粉含量则保持在 0.02 mg/g(FW)左右。

2.2 GA_3 处理对葡萄果实发育过程中淀粉代谢相关酶活性的影响

从图 3~5 可看出,总淀粉酶和 α -淀粉酶的变化趋势相似,均在花后 55 d 出现 1 个峰值, β -淀粉酶呈现波动性变化, α -淀粉酶和 β -淀粉酶在果实发育前期活性很低,随着果实的发育,至果实发育中后期达到较高水平,

之后略有下降,但 α -淀粉酶活性始终大于 β -淀粉酶。这与淀粉含量变化动态呈现互为消长的关系,尤其是在花后 45 d 最为明显。发育前期 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性较低,果实内淀粉含量快速积累;发育后期酶活性升高,淀粉含量急剧降解。 GA_3 影响淀粉酶的活性,与对照相比, GA_3 处理果实中 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性升高,10 和 20 mg/L GA_3 处理均显著提高了葡萄发育后期果实中淀粉酶活性。

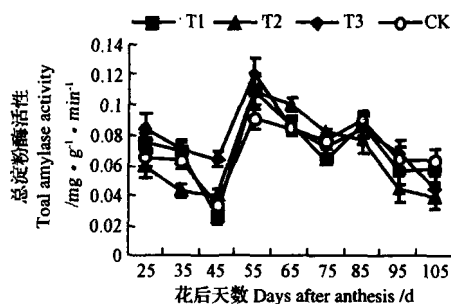


图 3 不同浓度 GA_3 处理对葡萄果实总淀粉酶活性的影响

Fig. 3 The effect of different concentration of GA_3 on total amylase activity of grape fruits

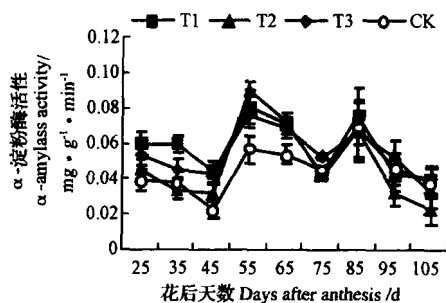


图 4 不同浓度 GA_3 处理对葡萄果实 α -淀粉酶活性的影响

Fig. 4 The effect of different concentration of GA_3 on α -amylase activity of grape fruits

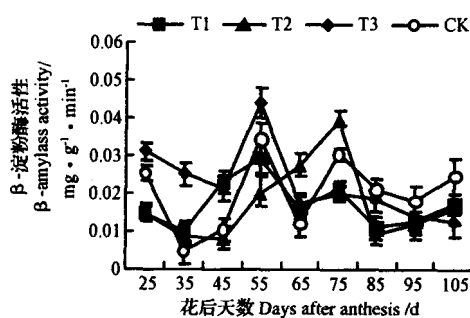


图 5 不同浓度 GA_3 处理对葡萄果实 β -淀粉酶活性的影响

Fig. 5 The effect of different concentration of GA_3 on β -amylase activity of grape fruits

葡萄果实中蔗糖合成酶(SS)随着果实的生长发育呈波动性的变化(图 6)。在果实发育前期,酶活性较高,随后开始下降,在花后第 45 天降到最低点,出现低谷,此后快速上升,从花后 75 d 保持稳定或微有上升,在花后

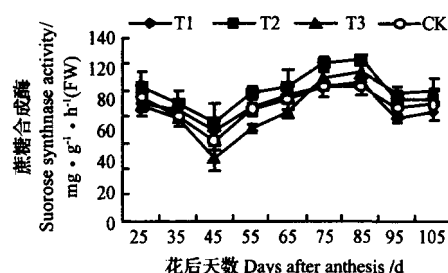


图6 不同浓度 GA_3 处理对葡萄果实 SS(蔗糖合成酶)活性的影响

Fig. 6 The effect of different concentration of GA_3 on sucrose synthase activity of grape fruits

第85天,果实开始成熟后 SS 活性又开始下降。使用 GA_3 后明显提高了 SS 的活性,尤其在花后 85 d, T1、T2、T3 处理的 SS 活性分别比对照高 4.17%、19.74%、12.54%, T2 和 T3 差异显著 ($P=0.05$)。

2.3 GA_3 处理对葡萄果实发育过程中淀粉代谢相关酶活性的影响

对葡萄果实可溶性糖、淀粉代谢相关酶活性的相关性分析见表1,葡萄果实中糖分的积累与 SS 显著相关,与淀粉酶活性关系不大。淀粉的含量与 SS 在 0.01 水平呈极显著正相关 ($r=0.807^{**}$),与 α -淀粉酶和总淀粉酶活性呈显著负相关(相关系数分别为 -0.771^{**} 和 -0.532^{*}),而与 β -淀粉酶活性关系不明显。说明 SS 是淀粉合成的关键酶, α -淀粉酶是淀粉降解为蔗糖的重要水解酶之一。

表1 葡萄果实淀粉积累和代谢相关酶活性的关系

Table 1 The relational analysis between emylase accumulation and emylase metabolizing enzyme activities in grape fruits

酶活性 Activity of enzymes	可溶性糖 Fructose content	淀粉 All sugar content
蔗糖合成酶 Suorose synthase	0.427*	0.807**
α -淀粉酶 α -amylase	0.256	-0.771^{**}
β -淀粉酶 β -amylase	0.014	-0.215
总淀粉酶 Toal amylase	0.229	-0.532^{*}

注:*,** 分别表示相关性达 0.05, 0.01 显著。

Note:*,** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

3 讨论与结论

淀粉是果实发育过程中碳水化合物的暂存形式,贮存于活细胞内有生活力的叶绿体或质体中,来源于经质外体途径大量运入的蔗糖和山梨醇,以及由果实叶绿体就地合成的蔗糖。在果实发育期间,质体内淀粉处于合成和降解的动态平衡过程中,只是前期以合成占优势,后期以降解占优势^[11]。该试验结果表明,葡萄果实在发育过程中,淀粉含量呈单峰曲线变化。 GA_3 处理可提高葡萄果实前期的淀粉积累速率,后期由于淀粉酶活性的增加,淀粉含量低于对照。幼果期淀粉含量较高为糖的

积累提供前提,增加了葡萄果实的库强,有利于提高果实内在品质。该试验中,果实发育中后期,淀粉含量的增加与可溶性糖含量的下降趋势相吻合(图1、2),说明淀粉积累可能是糖降解的结果。但是蔗糖含量与淀粉积累速率之间并没有显著的相关关系,它们之间存在着一定的关系,但并不相关。

蔗糖合成酶(SS)主要负责果实籽粒中蔗糖的降解,在蔗糖向淀粉的转化过程中起着重要作用。SS 是合成淀粉的第一个限速酶^[12],是淀粉积累的重要限速因子,第一关键酶^[13],为了保持植物“库—源”之间糖的浓度梯度,其中最重要的环节之一就是蔗糖进入果实后转化为葡萄糖、果糖或淀粉,此外还有在细胞内进行贮藏等^[14]。该试验结果显示,发育前期,SS 分解活性较高,淀粉酶活性较低,从韧皮部转运来的蔗糖被分解为果糖和葡萄糖,果糖在胞质内转变为磷酸果糖,或进入造粉体合成淀粉,从而果实膨大和淀粉累积;发育后期,SS 分解活性降低,淀粉酶活性升高。淀粉含量下降,各种可溶性糖浓度升高,淀粉酶所催化的淀粉降解占主导地位,淀粉降解后以各种可溶性糖贮藏在果实中。

在未成熟的果实果肉中有大量的淀粉,但在成熟期这些淀粉可在 β -淀粉酶催化下通过水解^[15]及磷酸解迅速降解为可溶性糖。Purgatto 等^[8]发现,在研究香蕉时发现,在其成熟过程中, α -淀粉酶可能是淀粉降解成蔗糖过程中重要的水解酶之一。由于赤霉素能诱导 α -淀粉酶的生成,促进淀粉水解,这样便增加了糖的浓度^[7]。对葡萄果实可溶性糖、淀粉代谢相关酶活性的相关性分析表明,葡萄果实中糖分的积累与蔗糖合成酶(SS)显著相关,与淀粉酶活性关系不大。通过相关分析可知,葡萄生长过程中输入果实内的碳水化合物依酶促作用而转化为可利用状态。

研究表明, GA_3 处理后葡萄果实中具有较高的糖含量,高糖含量可以满足淀粉合成的需求。外源 GA_3 可提高 α -淀粉酶和总淀粉酶的活性,也可提高蔗糖合成酶(SS)的活性,进而使植物体内淀粉类贮藏物质的降解为果实发育提供丰富的能量底物与结构碳架,说明外源激素加速了酶促反应,从而促进坐果与果实发育,这与周宇等^[16]及 Perez, et al^[17]研究结果一致。总之,葡萄果实膨大后期可溶性总糖含量的迅速提高是浆果总糖含量较高的一个重要原因。根据总淀粉含量和 α -淀粉酶活性的变化动态,可溶性总糖含量迅速提高的原因可能是淀粉分解导致可溶性总糖含量提高。与对照相比, GA_3 处理提高了葡萄果实发育前中期淀粉的积累速率和淀粉酶的活性,二者在果实发育后期则显著降低,表明 GA_3 处理能增强果实库强,促进果实中淀粉的积累与代谢。综合以上指标,以 20 mg/L GA_3 处理效果为佳。

参考文献

- [1] 王跃进,杨晓盆,翟秋喜,等.无核葡萄花前 GA₃ 处理对果实生长发育影响的研究[J].园艺学进展,2002(5):317-321.
- [2] 吴俊,钟家煌.外源 GA₃对藤稔葡萄果实生长发育及内源激素水平的影响[J].果树学报,2001,18(4):209-212.
- [3] 张树英.几种自制植物生长调节剂对葡萄和枣果实生长和品质的影响[D].太谷:山西农业大学,2004.
- [4] 陈俊伟,冯健君,秦巧平,等. GA₃ 诱导的单性结实-宁海白.白沙枇把糖代谢的研究[J].园艺学报,2006,33(3):471-476.
- [5] 陈锦水,方金豹,顾红,等.环剥和 GA₃ 处理对红地球葡萄果实性状的影响[J].果树学报,2005,22(6):610-614.
- [6] Wei L, Kong W, Yin J. Change of hydrolase activity in germinating seeds of trxs trll barle[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2008, 24(9): 1526-1530.
- [7] 霍树春,李建科,李锋,等.赤霉素的剂型及其应用研究[J].安徽农业科学,2007,35(24):7394-7395.
- [8] Purgatto E, Lajolo F M, doNascimento J R O, et al. Inhibition of β -amylase activity, starch degradation and sucrose formation by indole-3-acetic acid during banana ripening[J]. Planta, 2001, 212:823-828.
- [9] 李合生.植物生理生化试验原理和技术[M].北京,高等教育出版社,2000:134-137.
- [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] 王永章,张大鹏.果糖和葡萄糖参与诱导苹果果实酸性转化酶翻译和的抑制性调节[J].中国科学(c辑),2002,32(1):30-39.
- [12] Keeling P L, Wood J R, Tyson R H, et al. Starch biosynthesis in developing wheat grain[J]. Plant Physiology, 1988, 87:311-319.
- [13] 张海艳,董树亭,高荣岐,等.玉米籽粒淀粉积累及相关酶活性分析[J].中国农业科学,2008,41(7):2174-2181.
- [14] 王振平,奚强,李玉霞.葡萄果实糖分研究进展[J].中外葡萄与葡萄酒,2005(8):26-30.
- [15] Bassinello P Z, Cordenunsi B R, Lajolo F M. Amylolytic activity in fruits; comparison of different substrates and methods using banana as model[J]. J Agr Food Chem, 2002, 50(21):5781-5786.
- [16] 周宇,佟兆国,张开春,等.赤霉素在落叶果树生产中的应用[J].中国农业科技导报,2006,8(2):27-31.
- [17] Perez F J, Gomez M. Possible role of soluble invertase in the gibberellic acid berry-sizing effect in Sultana grape[J]. Plant Growth Regul, 2000, 30:111-116.

Effects of GA₃ on the Amylopectin Accumulation and Related Enzyme Activities in Amylopectin Metabolism of Grape Fruits

LI Peng-cheng¹, LI Ming¹, YU Song-lin², GUO Shao-jie¹, SU Xue-de¹

(1. Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract: The experiment was conducted with 3-year-old Red globe grape trees, the effect of GA₃ on the amylopectin accumulation and related enzyme activities in amylopectin metabolism of grape fruits were studied after spraying the GA₃ on the fruit on before blossoming and after blossoming. The results revealed that the sugar accumulate rate and the activity of sucrose synthase raised after treated by GA₃, 20 mg/L GA₃ treatment was the best significant; Amylopectin content of grape fruits increased differently after treated by GA₃, total amylase and α -amylase activity increased, while no significant effect on β -amylase. There was a close connection between GA₃ and amylopectin accumulation.

Key words: GA₃; grape; fruit; amylopectin accumulation; enzyme activities