

乙酰丙酸对“巨峰”葡萄叶绿素、产量和品质的影响

杨莉莉¹, 马 龙², 李献军³, 单 燕¹, 杨 玥¹, 同延安¹

(1. 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 甘肃农业大学 资源与环境学院, 甘肃 兰州 730070;
3. 杨凌气象局, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以4年生“巨峰”葡萄为试材,通过叶面喷施不同浓度的乙酰丙酸,探究了乙酰丙酸对“巨峰”葡萄叶绿素、产量和品质的影响。结果表明:喷施乙酰丙酸能相对提高葡萄叶片叶绿素含量,尤其是稀释600倍的处理效果最明显,在幼果期喷施第4周后所有喷施乙酰丙酸处理叶绿素含量相对对照增加效果显著;喷施乙酰丙酸葡萄产量提高了5.1%~27.9%,喷施稀释600倍的增产效果最佳;喷施不同浓度乙酰丙酸使葡萄单果粒重提高了0.38~0.83 g;喷施乙酰丙酸增加了葡萄果实可溶性糖含量、糖/酸、花青素含量,降低了可滴定酸含量,显著增加了葡萄皮的总酚物质、类黄酮、花青素含量,利于葡萄色香味的增加,不影响果实维生素C和单宁酸含量,且以喷施稀释600倍的效果最佳。葡萄生产上,可以喷施稀释600倍的乙酰丙酸,以增产和改善果实品质。

关键词:葡萄;乙酰丙酸;叶绿素;产量;品质

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)24-0005-04

乙酰丙酸(LA),亦称戊隔酮酸、左旋糖酸、果糖酸,低毒,有吸湿性,常压下蒸馏几乎不分解,分子中含有羰基、羧基和 α -氢等具有良好反应活性的基团,能进行酯化、氧化还原、卤化、缩合等多种反应。由于其可以低成本高收率的通过酸水解过程获得,加之其特殊的化学组成和空间结构使之成为一种重要的平台化合物,在有机合成和工农业、医药行业上,具有广泛的使用价值^[1-3]。

新一代平台化合物 LA,其重要的衍生物 5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)是具有多种生物活性的非蛋白氨基酸,是生物化学中至关重要的化合物,它是叶绿素、血红素、细胞色素等环状四吡咯基的化合物共同的生物合成中间体,为生命中普遍存在的天然氨基酸。在农业上可作为植物生长调节剂应用,在医药上可用来诊断和治疗癌症^[4]。大量研究证明 5-ALA 在农业上作为植物生长调节剂,可以提高叶绿素含量、促进光合效应^[5-7],提高抗逆性^[8-10],增加产量^[11-12],促进果实着色^[13-15]等。因此,5-ALA 作为生产调节剂在农业上的应用逐渐增多,但其价格高昂,汪良驹等^[16]2003 年报道价格约为 80 美元/g,目前其

价格约为 2 500 元/g。

在工业上 LA 是合成 5-ALA 最直接的途径^[17-18],在微生物培养中,添加 LA 可促使微生物 5-ALA 分泌增加^[19-20],LA 作为 5-ALA 的脱水酶抑制剂还常被用于研究 5-ALA^[21-22]。LA 与 5-ALA 联系密切,但是通过生物质酸水解就可以得到的 LA 是否可以直接作为植物生长调节物质起到类似 5-ALA 的作用的研究尚鲜见报道。为探究 LA 的作用,该试验以 4 年生“巨峰”葡萄为试材,研究了 LA 对“巨峰”葡萄叶绿素、5-ALA、产量和品质的影响,以期 LA 在农业上的合理应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试葡萄品种为 4 年树龄的“巨峰”,栽植密度为 6 000 株/hm²。

供试药品有效成分是乙酰丙酸(乙酰丙酸在香料、化妆品、烟草等工业中被用作食品添加剂,改善产品质量等^[1],对人类无不良影响),浓度为 5.3 g/L。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验在陕西扶风县揉谷乡新集村进行,位于暖温带半湿润偏旱气候区,年降水量 550~650 mm。试验共 5 个处理(表 1),每个处理选择 7 株长势均匀且无病害的葡萄果树,重复 3 次,随机区组排列。

1.2.2 试验管理 乙酰丙酸喷施时期在幼果期(6 月 5 日);采样第 1 次在幼果期 1 周后(6 月 12 日);第 2 次在

第一作者简介:杨莉莉(1988-),女,硕士研究生,研究方向为植物营养与施肥。E-mail:yalili2009@163.com.

责任作者:同延安(1956-),男,博士,教授,研究方向为植物营养与肥料学及施肥与环境。E-mail:tongyanan@nwsuaf.edu.cn.

基金项目:国际植物营养研究所(IPNI)资助项目。

收稿日期:2015-09-24

幼果期 2 周后(6 月 20 日);第 3 次在幼果期 3 周后(6 月 28 日);第 4 次在幼果期 4 周后(7 月 6 日);第 5 次在幼果期 5 周后(7 月 14 日)。除试验处理不同外,果园施肥、灌溉、修剪、病虫害管理等均与当地农民习惯一致。

表 1 乙酰丙酸喷施方案

Table 1 Levulinic acid spraying scheme

处理 Treatment	喷施浓度 Concentration	喷施时期 Spraying period
T0(对照)	等量清水	幼果期
T1	稀释 1 000 倍	幼果期
T2	稀释 800 倍	幼果期
T3	稀释 600 倍	幼果期
T4	稀释 400 倍	幼果期

1.3 项目测定

幼果期喷施后每隔 1 周分别测定叶绿素和 5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)含量。取样方法:取从枝条基部数第 5~6 片叶(能代表整株叶绿素含量),用手持便携式叶绿素仪立即测定叶绿素含量,室内测定 5-ALA 含量。

收获时分小区计产;摘取每穗上、中、下部果粒各 10 粒称重,计算平均单果粒重;5-ALA 含量用分光光度计测定^[23];叶绿素含量用便携式 SPAD-502 叶绿素仪测定;用蒽酮比色法测定可溶性总糖含量;可滴定酸含量用 NaOH 滴定法测定;维生素 C 含量用 2,6-二氯酚靛酚比色法测定;可溶性固形物含量用 PAL-1 型糖度计测定;总酚、类黄酮、花青素含量用分光光度计测定^[24];单宁含量用福林-丹尼斯法测定。

1.4 数据分析

试验数据用 Excel 2003 和 SPSS 进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 喷施乙酰丙酸对葡萄叶绿素及 5-氨基乙酰丙酸含量的影响

由图 1 可以看出,所有处理叶绿素含量均高于对照,其中幼果期喷施稀释 600 倍的处理叶绿素含量均处

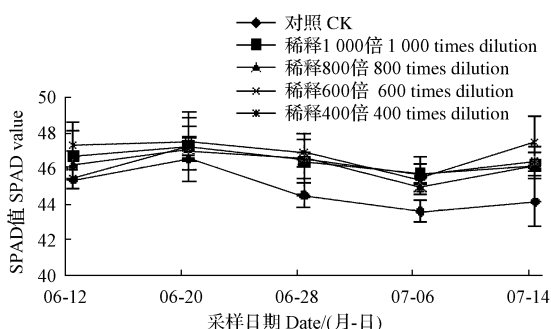


图 1 喷施不同浓度乙酰丙酸葡萄叶片叶绿素的动态变化

Fig. 1 The dynamical change of chlorophyll content in grape leaf dealed with different concentration of levulinic acid

于最高值,分别达 47.4、47.5、46.9、47.5 SPAD。并且除 6 月 20 日外,其余采样日期叶绿素含量均显著高于对照;幼果期喷施 4 周后,所有喷施乙酰丙酸处理叶绿素含量均显著高于对照。幼果期喷施乙酰丙酸 2 周内叶绿素含量增加,第 3 周叶绿素含量开始下降,其中对照的叶绿素含量下降较快,5 周后所有处理叶绿素含量均有所上升,可能与 7 月上旬的追肥有关。

所有处理的葡萄在不同时期叶片内 5-ALA 含量无显著性差异,且随着时间的推移所有处理的 5-ALA 含量大致呈下降趋势,其中对照组的 5-ALA 含量几乎一直处于最高(图 2)。结合图 1 叶绿素含量的变化可知,幼果期喷施不同浓度乙酰丙酸后,2 周内叶绿素的增加量与 5-ALA 的降低量呈正相关关系;喷施 2 周后,所有处理叶绿素含量和 5-ALA 含量均下降,但对照的叶绿素最低,而 5-ALA 最高,表明可能是喷施乙酰丙酸的处理使植物体内的 5-ALA 活性更强,能产生相对较多的叶绿素。

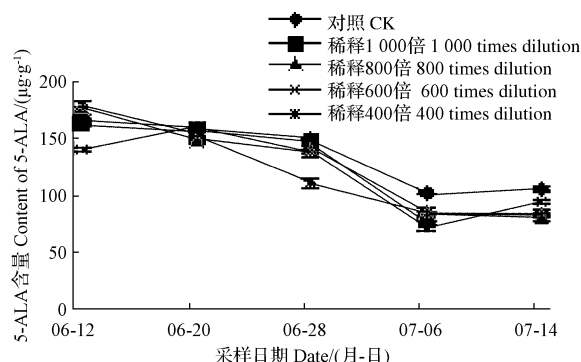


图 2 喷施不同浓度乙酰丙酸葡萄叶片 5-ALA 含量的动态变化

Fig. 2 The dynamical change of 5-ALA content in grape leaf dealed with different concentration of levulinic acid

2.2 喷施乙酰丙酸对葡萄产量和品质的影响

2.2.1 喷施乙酰丙酸对葡萄产量和单果重的影响 由表 2 可以看出,喷施不同浓度乙酰丙酸葡萄产量和单果重分别比对照增加了 5.1%~27.9% 和 0.38~0.83 g。

表 2 喷施不同浓度乙酰丙酸对葡萄产量的影响

Table 2 Effect of different concentration of levulinic acid on grape yield and single fruit weight

处理 Treatment	产量 Yield/(kg·hm ⁻²)	增产率 Rate of growth/%	单果重 Single fruit weight/g
对照	31 735.6a	—	9.33a
稀释 1 000 倍	34 043.1a	7.3	9.80a
稀释 800 倍	33 360.6a	5.1	9.71a
稀释 600 倍	40 599.0a	27.9	10.16a
稀释 400 倍	39 951.6a	25.9	10.11a

注:表中同列不同字母表示处理间达 5% 差异显著水平,下同。

Note: Different letters in the same column mean significant difference at 5% level, the same below.

随着乙酰丙酸浓度的增加,葡萄产量和单果重均先增后降,稀释 600 倍的处理产量最高达 40 599.0 kg/hm²,单果重最大达 10.16 g,表明稀释 600 倍可能是增产的最佳浓度。

2.2.2 喷施乙酰丙酸对葡萄可溶性固形物、可滴定酸、可溶性糖和糖/酸的影响 喷施不同浓度乙酰丙酸处理的葡萄可溶性固形物、可溶性糖含量和糖/酸均高于对照(表 3),表明喷施乙酰丙酸可以增加葡萄可溶性固形物、可溶性糖含量,提高糖/酸,改善了葡萄的口感。

表 3 不同浓度乙酰丙酸对葡萄可滴定酸、可溶性糖和糖/酸的影响

Table 3 Effect of different concentration of levulinic acid on grape soluble, titratable acid, soluble sugar, sugar acid ratio

处理 Treatment	可溶性固形物含量 Soluble solid content/ %	可滴定酸含量 Titratable acid content/ %	可溶性糖含量 Soluble sugar content/ %	糖/酸 Sugar acid ratio
对照	16.5a	0.66a	13.21a	19.72a
稀释 1 000 倍	17.5a	0.64a	14.62a	22.83a
稀释 800 倍	17.2a	0.65a	14.22a	21.84a
稀释 600 倍	17.1a	0.69a	14.49a	21.07a
稀释 400 倍	17.2a	0.69a	14.60a	21.15a

2.2.3 喷施乙酰丙酸对葡萄果肉和果皮总酚物质、类黄酮和花青素含量的影响 果蔬组织中存在着大量酚类物质、类黄酮类和花青素等植物次生代谢产物,它们与果蔬的色泽发育、品质和风味形成、成熟衰老过程、组织褐变、抗逆性和抗病性等作用密切相关,对果树的贮藏、加工性能,果蔬的营养价值和医疗保健作用都具有重要影响。一定范围内,这些指标越高,果蔬的营养价值越高。喷施不同浓度乙酰丙酸对葡萄果肉总酚物质和类黄酮均无显著性影响,显著增加了葡萄果肉花青素含量和葡萄皮总酚物质、类黄酮及花青素含量(表 4)。葡萄果肉以喷施稀释 600 倍的花青素含量最高,为对照的

表 4 不同浓度乙酰丙酸对葡萄果肉和果皮总酚物质、类黄酮和花青素含量的影响

Table 4 Effect of different concentration of levulinic acid on grape fruit pulp and fruit peel total phenolic substances, flavonoids and anthocyanin

处理 Treatment	总酚物质 Total phenolic substance /(OD ₂₈₀ · g ⁻¹)	类黄酮 Flavonoid /(OD ₃₂₅ · g ⁻¹)	花青素 Anthocyanin/ U
对照	0.078a	0.449a	0.002b
果肉 稀释 1 000 倍	0.078a	0.460a	0.004a
稀释 800 倍	0.079a	0.461a	0.004a
稀释 600 倍	0.075a	0.436a	0.005a
稀释 400 倍	0.076a	0.443a	0.004a
果皮 对照	0.235b	0.445b	0.225b
稀释 1 000 倍	0.323a	0.583a	0.373a
稀释 800 倍	0.327a	0.610a	0.385a
稀释 600 倍	0.343a	0.650a	0.417a
稀释 400 倍	0.334a	0.637a	0.386a

注:U=(OD₃₂₅-OD₆₀₀)/g。

Note: U=(OD₃₂₅-OD₆₀₀)/g。

2.5 倍;葡萄果皮的总酚物质、类黄酮、花青素以喷施稀释 600 倍处理的含量最高,分别为对照的 1.5、1.5、1.9 倍。由此可见,喷施乙酰丙酸利于增加葡萄果肉花青素含量,增加葡萄皮总酚物质、类黄酮和花青素含量,即利于葡萄色香味的增加。

3 结论与讨论

BEALE 等^[21]和 KLEIN 等^[22]研究证明,乙酰丙酸(LA)-5-ALA 的脱水酶抑制剂,抑制 5-ALA 合成叶绿素,促使植物体内 5-ALA 积累;SASAKI 等^[20]在球形红细菌 *Rhodobacter sphaeroides* 光合培养过程中,加入 LA,使 ALA 合成酶活性提高,其脱水酶降低,达到增加 ALA 产量的效果。并有大量研究^[25-27]证明,5-ALA 是一种植物生长调节物质参与叶绿素合成并调节植物生长。该试验在幼果期喷施乙酰丙酸后,2 周内葡萄叶绿素含量增加,5-ALA 含量减少,且喷施乙酰丙酸处理的叶绿素含量均高于对照处理,5-ALA 含量低于对照,这可能是由于喷施乙酰丙酸后,抑制了 5-ALA 合成叶绿素,使植物体内 5-ALA 短时间内积累,并使积累的 5-ALA 持续发挥其活性,从而出现喷施乙酰丙酸处理的 5-ALA 含量低,叶绿素含量高。6 月 20 日至 7 月 6 日,所有处理叶绿素含量均有一定程度降低,但喷施乙酰丙酸处理的叶绿素含量仍高于对照,这可能是由于葡萄自身生理活动使叶绿素含量降低,喷施乙酰丙酸相对提高的叶绿素量也不能弥补其自身代谢所降低的叶绿素含量,只能相对于对照有一定增加。7 月 14 日,葡萄叶绿素含量又有一定增加,可能与 7 月上旬的追肥有关。

幼果期喷施稀释 600 倍的乙酰丙酸增加了葡萄的产量、单果粒重,这可能与叶片叶绿素含量的增加有关,利于光合产物的生产与积累。

汪良驹等^[23]研究表明,5-ALA 处理明显增加苹果果实可溶性固形物含量,降低酸度,提高固酸比,促进果皮花青素积累。该试验中喷施乙酰丙酸处理增加了果实可溶性糖含量、糖/酸、花青素含量,降低了可滴定酸含量,显著增加了果皮的总酚物质、类黄酮和花青素含量,对葡萄维生素 C 和单宁酸含量无影响(数据未列出)。表明喷施乙酰丙酸也能起到类似 5-ALA 的作用,这可能是由于乙酰丙酸使植物体内 5-ALA 短暂积累,并使积累的 5-ALA 一直持续其活性,在植物体内发挥其作用,从而改善了果实品质。

前人关于 LA 与 5-ALA 关系的研究均是短期内进行的,该研究在喷施 LA 1 周后进行的取样测定,LA 发挥作用的原理还有待进一步详细研究。

参考文献

[1] 苏萍. 乙酰丙酸的研究现状[J]. 广西轻工业, 2008(8): 24-27.

- [2] 于悦奇. 乙酰丙酸的应用简介[J]. 天津化工, 1989(4):46-47.
- [3] 龚艳. 生物质基乙酰丙酸的氧化反应及机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011.
- [4] 张一宾. 5-氨基乙酰丙酸(ALA)的功能与展开[J]. 世界农药, 2006, 8(4):14-17.
- [5] 孙永平, 张治平, 徐呈祥, 等. 5-氨基乙酰丙酸处理对低温下西瓜叶片快速叶绿素荧光诱导曲线的影响[J]. 园艺学报, 2009, 36(5):671-678.
- [6] ZHANG S J, LI L, LI G M. Influences of 5-ALA Application on Winter Oilseed Rape (*Brassica napus* L.) Growth before Winter[J]. Agricultural Science Technology, 2011, 12(3):324-329.
- [7] 徐铭, 徐福利. 5-氨基乙酰丙酸对日光温室油菜产品品质的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(3):133-137.
- [8] 程菊娥, 肖启明, 成飞雪, 等. 5-氨基乙酰丙酸对温室烟草的光合作用及抗逆性的促进效应[J]. 湖南农业科学, 2007(4):58-60.
- [9] 康琅, 程云, 汪良驹. 5-氨基乙酰丙酸对秋冬季大棚西瓜叶片光合作用及抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(11):2297-2301.
- [10] 尹璐璐, 于贤昌, 王英华, 等. 5-氨基乙酰丙酸对黄瓜幼苗抗冷性的影响[J]. 西北农业学报, 2007, 16(4):166-169.
- [11] 郭珍, 徐福利, 汪有科. 5-氨基乙酰丙酸对枣树生长发育、产量和品质的影响[J]. 西北林学院学报, 2010, 25(3):93-96.
- [12] 冯志威, 郭尚, 毛丽萍, 等. ALA处理对菠菜品质和产量的影响[J]. 山西农业科学, 2009, 37(5):42-43.
- [13] 郭磊, 蔡志翔, 张斌斌, 等. 5-氨基乙酰丙酸促进桃果皮提前着色机制研究[J]. 园艺学报, 2013, 40(6):1043-1050.
- [14] 王中华, 汤国辉, 李志强, 等. 5-氨基乙酰丙酸和金雀异黄酮促进苹果果皮花青素形成的效应[J]. 园艺学报, 2006, 33(5):1055-1058.
- [15] 高晶晶, 冯新新, 段春慧, 等. ALA提高苹果叶片光和性能与果实品质的效应[J]. 果树学报, 2013, 30(6):944-951.
- [16] 汪良驹, 姜卫兵, 章镇, 等. 5-氨基乙酰丙酸的生物合成和生理活性及其在农业中的潜在应用[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3):185-192.
- [17] 郭清泉, 陈焕钦. 乙酰丙酸及其衍生物的研究进展[J]. 精细石油化工, 2003, 5(3):45-48.
- [18] 刘海灵, 江焕峰, 王玉刚, 等. 新型光动力化合物 5-氨基乙酰丙酸的化学合成及应用[J]. 现代化工, 2004, 7(24):19-20.
- [19] BECALE S I. The biosynthesis of aminolevulinic acid in *Chlorella*[J]. Plant Physiol, 1970, 45(4):504-506.
- [20] SASAKI K, WATANABE M, TANAKA T, et al. Biosynthesis biotechnological production and applications of 5-aminolevulinic acid[J]. Applied Microbial Biotech, 2002, 58(1):23-29.
- [21] BEALE S I, CASTELFRANCO P A. The biosynthesis of δ -aminolevulinic acid in higher plants[J]. Plant Physiol, 1974, 53:291-296.
- [22] KLEIN S, HAREL E, NE'EMAN E, et al. Accumulation of δ -aminolevulinic acid and its relation to chlorophyll synthesis and development of plastid structure in greening leaves[J]. Plant Physiol, 1975, 56:486-496.
- [23] 汪良驹, 王中华, 李志强, 等. 5-氨基乙酰丙酸促进苹果果实着色的效应[J]. 果树学报, 2004, 21(6):512-515.
- [24] 曹建康. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
- [25] 柳翠霞, 罗庆熙, 李跃建, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对弱光下黄瓜生长指标及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国蔬菜, 2011(16):72-78.
- [26] 汪良驹, 石伟, 刘晖, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸处理对小白菜叶片的光合作用效应[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(2):34-38.
- [27] HOTTA Y, TANAKA T, BINGSHAN L. Improvement of cold resistance in rice seedlings by 5-ALA[J]. Pest Sci, 1998, 23(1):29-33.

Effect of Levulinic Acid on 'Kyoho' Grape Chlorophyll, Yield and Quality

YANG Lili¹, MA Long², LI Xianjun³, SHAN Yan¹, YANG Yue¹, TONG Yan'an¹

(1. College of Resources and Environment, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. College of Resources and Environment, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070; 3. Yangling Meteorological Bureau, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: 4-year-old 'Kyoho' grape was used as materials, the effect of levulinic acid on 'Kyoho' grape chlorophyll, yield and quality were studied through foliar spraying different concentrations of levulinic acid. The results showed that spraying levulinic acid could improve the chlorophyll content of grape leaf, especially spraying the diluted 600 times had the best obvious effect, and the effect of all treated treatments were significant after the fourth week. Spraying levulinic acid had improved the grape yield, increased 5.1%—27.9%, spraying the diluted 600 times levulinic acid was the most effective. The single fruit weight increased by 0.38—0.83 g with spraying different concentration of levulinic acid. Spraying levulinic acid increased the grape fruit soluble sugar content, sugar acid ratio, anthocyanin content, reduced the titratable acid content, significantly increased the grape skins' total phenolic substances, flavonoid and anthocyanin content, it was conducive to the increase of grape flavor, did not affect the fruit vitamin C and tannic acid content, spraying diluted 600 times at young fruit period was one of the good measures to increase yield and improve fruit quality.

Keywords: grape; levulinic acid; chlorophyll; yield; quality