

24-表油菜素内酯对“赤霞珠”葡萄品质及蔗糖代谢相关酶活性的影响

柳巧祺^{1,2}, 秦晨亮^{1,2}, 代红军^{1,2}

(1. 宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏大学 葡萄与葡萄酒教育部工程中心, 宁夏 银川 750021)

摘要:以“赤霞珠”(Cabernet Sauvignon)葡萄果实为试材, 外源喷施(0.05、0.10、0.50 mg·L⁻¹) 24-表油菜素内酯(EBR)于葡萄果穗, 测定葡萄果实品质和蔗糖代谢相关酶活性。结果表明: 0.05 mg·L⁻¹ EBR 处理促进了“赤霞珠”葡萄果实中花色苷、总酚的积累, 0.50 mg·L⁻¹ EBR 处理促进了“赤霞珠”葡萄果实中单宁的积累, 降低了葡萄果实中总酸含量。0.10 mg·L⁻¹ EBR 处理对蔗糖转化酶活性提高有较好的作用, 从而影响了果实可溶性总糖的含量。

关键词:“赤霞珠”葡萄; 24-表油菜素内酯; 品质; 蔗糖代谢相关酶

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)15-0038-04

葡萄果实成熟是一系列复杂而有序的过程, 果实在成熟期逐渐达到品种固有的品质特性^[1], 而酿酒葡萄的品质直接影响着葡萄酒的质量和风格^[2]。蔗糖、葡萄糖和果糖是葡萄果实中主要的可溶性糖, 其含量对果实品质起重要作用。与蔗糖代谢和积累密切相关的酶主要有酸性转化酶(acid invertase, AI)、中性转化酶(neutral invertase, NI)、蔗糖合成酶(sucrose synthase, SS)和蔗糖磷酸合成酶(sucrosephosphate synthase, SPS), 蔗糖代谢相关酶的活性是决定库强大小的关键因子, 进而影响果实的糖积累^[3]。外源喷施植物生长调节剂调控葡萄果实品质是生产中常用的方法^[4]。油菜素内酯(EBR)是以甾醇为基本结构的具有生物活性的天然化合物, 被定为“第六大激素”^[5]。极低浓度的油菜素内酯即可表现出较高的生理效应, 可协调各类激素的平衡, EBR 诱导乙烯的释放与生长素的作用有某些相似之处^[6]。有研究指出 EBR 能够通过提高乙烯含量来促进番茄果实着色和成熟^[7]。有研究认为, 油菜素内酯类化合物的使用能够促进葡萄的生长和成熟^[8-9], 外源 24-表油菜素内酯可促进葡萄成熟, 提高葡萄果皮中花色素以及其它酚类物质的含量^[9]。但目前关于油菜素内酯对酿酒葡萄品质影响的研究报道相对较少, 而且对酿酒葡萄蔗糖代谢相

关酶活性的影响研究也相对较少。因此, 该试验以“赤霞珠”葡萄为试材, 使用不同浓度的 24-表油菜素内酯对果实进行处理, 研究油菜素内酯对“赤霞珠”葡萄果实成熟时品质的影响以及蔗糖代谢相关酶活性的影响, 以期在生产上通过外源植物激素提高酿酒葡萄品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2015 年在宁夏大学葡萄与葡萄酒教育部工程中心玉泉营试验基地进行, 供试材料为 5 年生“赤霞珠”(Cabernet Sauvignon)葡萄, 生长健壮, 倒“L”形, 主蔓 10~15 cm 留 1 个结果枝, 在每个结果枝上留 1 个果穗, 单臂篱架栽培, 株行距为 0.5 m×3.0 m, 冬天埋土防寒, 正常水肥和田间管理。

1.2 试验方法

在葡萄盛花期, 从长势基本一致的植株中选择生长一致的果穗挂牌, 于花后 10 d 进行植物激素处理。试验共设 3 种浓度 EBR 处理: 0.05、0.10、0.50 mg·L⁻¹, 处理代号 1、2、3, 以清水代替植物激素作为对照(CK)。植物激素用 98%乙醇溶解后稀释到适宜浓度, 乙醇最终体积浓度为 0.1%, 用吐温-80 作为展开剂, 最终体积浓度为 0.1%。在果穗上均匀喷施, 设 3 次重复, 每个重复 10 株葡萄。

1.3 项目测定

1.3.1 样品的采集与处理 于花后 95 d 采样, 每个处理小区随机采 5 穗葡萄, 选取向阳、背阴不同着生方向, 在其上、中、下不同部位采摘果穗, 采后立即放入冰盒,

第一作者简介:柳巧祺(1993-), 女, 宁夏固原人, 硕士研究生, 研究方向为葡萄栽培生理。E-mail:1250565159@qq.com.

责任作者:代红军(1967-), 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为葡萄栽培生理。E-mail:dai_hj@nxu.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260456)。

收稿日期:2016-04-15

带回实验室后,用解剖剪从果穗上剪下果粒并混匀,样品放入 -80°C 冰箱,备用。

1.3.2 果实品质指标的测定 可溶性总糖采用浓硫酸-蒽酮^[10]比色法测定;可滴定酸采用 NaOH 滴定法^[10]测定;单宁采用福林-丹尼斯法^[10]测定;总酚采用福林-肖卡法^[10]测定;总花色苷用分光光度比色法测定^[11]。

1.3.3 蔗糖代谢相关酶活性测定 蔗糖酸性转化酶(AI)、蔗糖中性转化酶(NI)、蔗糖合成酶(SS)、蔗糖磷酸合成酶(SPS)的测定参照赵智中等^[12]的方法,并结合黄学春^[13]的方法进行测定。

1.4 数据分析

采用 SAS. V 8 软件和 Excel 软件对试验数据进行方差和显著性分析。

2 结果与分析

2.1 EBR 处理对“赤霞珠”果实品质的影响

由表 1 可知,EBR 处理对“赤霞珠”葡萄成熟期的果实可溶性总糖质量浓度有影响,其中 $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理下可溶性总糖提高较为明显,其它 2 个处理可溶性总糖略有下降,但与对照无显著性差异。总酸质量浓度在 0.05 、 $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理时表现为酸度增加, $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理时表现为酸度降低,酸度变化无明显规律,与对照组相比部分处理组的糖酸比相对较低。

表 1 EBR 处理对“赤霞珠”葡萄果实总糖、总酸和糖酸比的影响

Table 1 Effect of the EBR on the total sugar, acid and sugar-acid ratio of ‘Cabernet Sauvignon’ grape

处理 Treatment	可溶性总糖质量浓度 Total soluble solids mass concentration/ %	总酸质量浓度 Total acid mass concentration /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	糖酸比 Sugar-acid ratio
CK	$19.53\pm0.35\text{a}$	$6.83\pm0.08\text{b}$	28.16
1	$19.45\pm0.18\text{a}$	$7.55\pm0.22\text{a}$	25.76
2	$19.15\pm0.37\text{a}$	$7.35\pm0.33\text{a}$	26.05
3	$20.05\pm0.15\text{a}$	$5.02\pm0.15\text{c}$	39.94

注:同列数值后不同小写字母表示达 5% 差异显著水平。

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

由表 2 可知,单宁、花色苷、总酚等品质指标在经 EBR 处理后均有所增加,其中单宁含量随着 EBR 处理浓度的增加而增加, $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理时达到最高,单宁质量浓度为 $2.21\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。花色苷在经 EBR 处理后与对照相比积累量明显增加,但 3 个处理间差异不显著, $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理时积累最高,花色苷质量浓度为 $0.220\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。总酚在经 EBR 处理后与对照相比积累量也明显增加,其中 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理时积累最高,总酚质量浓度为 $4.19\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。综上分析, $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理促进了“赤霞珠”葡萄果实中花色苷、总酚的积累, $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR 处理促进了“赤霞珠”葡萄果实中单宁的积累,降低葡萄果实中总酸含量。

表 2 EBR 处理对“赤霞珠”葡萄果实单宁、总酚和花色苷的影响

Table 2 Effect of the EBR on the anin, total polyphenols and anthocyanin content of ‘Cabernet Sauvignon’ grape $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

处理 Treatment	单宁质量浓度 Tannin mass concentration	花色苷质量浓度 Anthocyanin mass concentration	总酚质量浓度 Total polyphenols mass concentration
CK	$1.07\pm0.43\text{b}$	$0.210\pm0.010\text{a}$	$2.79\pm1.15\text{ab}$
1	$1.19\pm0.14\text{ab}$	$0.220\pm0.004\text{a}$	$4.19\pm0.76\text{a}$
2	$1.48\pm0.20\text{b}$	$0.218\pm0.010\text{a}$	$2.85\pm0.52\text{b}$
3	$2.21\pm0.76\text{a}$	$0.217\pm0.010\text{a}$	$2.95\pm0.80\text{ab}$

2.2 EBR 处理对蔗糖代谢相关酶活性的影响

由图 1 可知,对照组在成熟果实内蔗糖酸性转化酶(AI)的活性为葡萄糖 $45.04\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$,而经不同浓度 EBR 处理后 AI 活性相对降低。中性转化酶(NI)在成熟期活性一直低于酸性转化酶,而且经过 EBR 处理的葡萄果实中 NI 活性有显著增加,其中 $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理下 NI 活性最高,为葡萄糖 $24.10\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

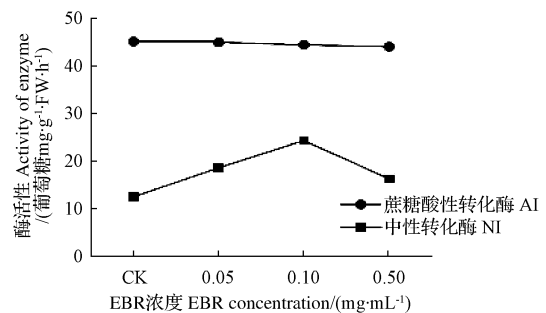


图 1 蔗糖酸性、中性转化酶活性变化

Fig. 1 The activity change of SAI and SNI

由图 2 可知,未经 EBR 处理的对照组在成熟果实内蔗糖合成酶(SS)活性为蔗糖 $65.74\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$,经过 EBR 处理后蔗糖合成酶活性降低,其中 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理降低较为明显。未经 EBR 处理的对照组在成熟果实内蔗糖磷酸合成酶(PPS)活性为蔗糖 $23.05\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$,经过 EBR 处理后 SPS 活

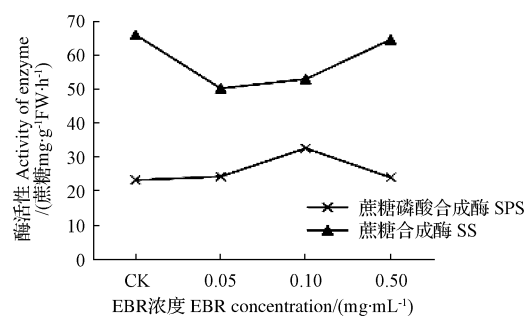


图 2 蔗糖合成酶与蔗糖磷酸合成酶活性变化

Fig. 2 The activity change of SPS and SS

性增加,其中 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理增加最为明显,活性达到蔗糖 $32.40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

3 讨论与结论

酿酒葡萄果实的成熟度和品质直接影响着葡萄酒的品质,使用外源植物生长调节剂提高果实品质作为一种高效、环保、节能的有效手段受到广泛关注。油菜素内酯类化合物作为一种新型的植物激素,关于其促进葡萄生长成熟的作用已有研究^[11,14],但对其果实中蔗糖相关酶活性研究报道较少。该试验结果表明,EBR 处理促进了“赤霞珠”葡萄果实中花色苷、总酚、单宁的积累,这与前人研究结果一致^[11],说明 EBR 对提高酿酒葡萄品质起到很重要的作用。 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 处理后葡萄可溶性总糖与对照相比有所增加,但增加程度无显著性差异,进一步研究蔗糖代谢相关酶的活性,可解释可溶性总糖的变化情况。蔗糖代谢酶是糖积累的重要环节,蔗糖代谢酶主要包括蔗糖转化酶和蔗糖合成酶,其中转化酶在葡萄果实糖分代谢中起主要作用^[15]。有研究表明,整个葡萄果实发育过程中 AI 活性相对于 NI 一直保持在较高水平^[3],这与该试验中果实成熟期 AI 活性比 NI 高的结果保持一致。ZHU 等^[16]认为在细胞中存在一个酸性转化酶活性的阈值,当酸性转化酶活性超过阈值时,蔗糖就不会积累,在成熟组织中,酸性转化酶水平较低,而中性转化酶对蔗糖水解更为重要,所以中性转化酶的活性直接影响果实糖分的积累。葡萄果实是主要的库器官,蔗糖作为运输物质经韧皮部进入到果实,蔗糖在果实中主要是被蔗糖转化酶转化成还原糖贮存在果实细胞中,因此葡萄果实中的蔗糖含量很少^[17]。该试验中, $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 处理有助于提高 NI 的活性,因此葡萄果实中的蔗糖转化成还原糖,所以试验测得可溶性总糖含量有所降低,这与林聪等^[17]试验结论保持一致。SS 通过影响果实的库强来影响果实的糖积累,成熟果实中影响果实内蔗糖合成的主要酶是 SS 且果实糖含量与 SS 活性呈显著正相关^[18],该试验中经过不同浓度 EBR 处理后, $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度处理时活性比对照降低最为明显,因此蔗糖合成途径相对较慢,所以可溶性总糖含量降低,这与该试验数据保持一致。SPS 是蔗糖合成途径主要的限速酶,SPS 参与控制蔗糖长途运输与库组织蔗糖代谢^[19],该试验中 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度 EBR 处理有助于提高 SPS 酶的活性,所以可溶性总糖含量理论上会有提高,但由于蔗糖合成酶中 SS 相对 SPS 起主要作用,所以相互作用后可溶性总糖还是有所降低。研究表明蔗糖代谢 2 种相关酶中,转化酶在葡萄果实糖分代谢中起主要作用,所以 NI 的活性主要影响葡萄果实中可溶性总糖的积累,其它 3 种酶与其相协作。该试验结果表明, $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 处理对蔗糖转化酶活性提高有较好的作用,从而影响了果实可溶性总糖的

含量。

在果实成熟过程中,参与成熟过程调控的植物激素并不是单独发挥作用。该试验研究表明,适当的 EBR 处理提高了果实品质和蔗糖代谢相关酶活性,有利于更好的理解果实中糖分积累与蔗糖代谢相关酶活性的关系,为以后通过调控蔗糖代谢相关酶活性来控制果实糖分的积累提供良好的参考,但如何更好的与其它植物激素配合提高葡萄果实品质,EBR 是否能够直接作为信号分子来调控葡萄成熟,仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 李华,王华,袁春龙,等. 葡萄酒工艺学[M]. 北京:科学出版社,2007:41-43.
- [2] 马立娜,惠竹梅,高翔,等. 脱落酸和 24-表油菜素内酯对葡萄成熟过程中果实内源激素含量的影响[J]. 北方园艺,2012(17):16-19.
- [3] 闫梅玲,王振平,范永,等. 蔗糖代谢相关酶在赤霞珠葡萄果实糖积累中的作用[J]. 果树学报,2010,27(5):703-707.
- [4] DAVIES C, BOTTCHER C. Hormonal control of grape berry ripening[M]. Dordrecht Heidelberg London New York:Springer,2009:229-261.
- [5] MITCHELL J W, MANDAVA N B, WORLEY J F, et al. Brassinins a new family of plant hormones from rape pollen[J]. Nature,1970,225:1065-1066.
- [6] 张玉萍,刘威生,孙绍春,等. 油菜素内酯在果树上的应用研究进展[J]. 安徽农业科学,2010,38(12):6153-6154,6157.
- [7] VARDHINI B V, RAO S S R. Acceleration of ripening of tomato pericarp discs by brassinosteroids[J]. Phytochemistry,2002,61(7):843-847.
- [8] SYMONS G M, DAVIES C, SHAVERUKOV Y, et al. Grapes on steroids brassinosteroids are involved in grape berry ripening[J]. Plant Physiology,2006,140:150-158.
- [9] XI Z M, ZHANG Z W, HUO S S, et al. Regulating the-secondary metabolism in grape berry using exogenous 24-epibrassinolide for enhanced phenolic content and antioxidant capacity[J]. Food Chemistry,2013,141:3056-3065.
- [10] 王华. 葡萄与葡萄酒实验技术操作规范[M]. 西安:西安地图出版社,1999:149-150,152-153.
- [11] 马立娜,惠竹梅,霍珊珊,等. 油菜素内酯和脱落酸调控葡萄果实花色苷合成的研究[J]. 果树学报,2012,29(5):830-836.
- [12] 赵智中,张上隆,徐昌杰,等. 蔗糖代谢相关酶在温州蜜柑果实糖积累中的作用[J]. 园艺学报,2001,28(2):112-118.
- [13] 黄学春. 调亏灌溉对酿酒葡萄光合作用及果实生长发育的影响研究[D]. 银川:宁夏大学,2014.
- [14] 张晖,惠竹梅,彭小琴,等. 表油菜素内酯对葡萄果实成熟的调控及与脱落酸的关系[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2015(12):167-173,180.
- [15] 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.
- [16] ZHU Y J, KOMOR E, MOOR D H. Sucrose accumulation in the sugar-cane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase[J]. Plant Physiology,1997,115:609-616.
- [17] 林聪,代红军,王振平. 木醋液对酿酒葡萄“赤霞珠”品质及糖酸等物质积累的影响[J]. 北方园艺,2014(4):17-21.
- [18] 龚荣高,张光伦,吕秀兰,等. 脐橙在不同生境下果实蔗糖代谢相关酶的研究[J]. 园艺学报,2004,31(6):719-722.
- [19] 闫梅玲,代红军,单守明,等. 蔗糖代谢相关酶对果实糖积累影响的研究进展[J]. 安徽农业科学,2009(29):14021-14023,14027.

DOI:10.11937/bfyy.201615010

“红玛瑙”甜樱桃不同果枝需冷量研究

宋永宏, 戴桂林, 聂国伟, 李 凯, 田永强, 石美娟

(山西省农业科学院 果树研究所, 果树种质创制和利用山西省重点实验室, 山西 太原 030031)

摘 要:以山西晋中地区“红玛瑙”甜樱桃为试材,在2012、2013年采用0~7.2℃模型,通过花枝(混合枝、长果枝、中果枝、短果枝、花簇状)田间采集,组培室恒温水培法,对其日光温室生产中需冷量进行了研究。结果表明:甜樱桃的叶芽需冷量低于花芽;5类果枝需冷量顺序为花簇状<短果枝<中果枝<长果枝<混合枝。

关键词:“红玛瑙”甜樱桃;不同果枝;需冷量

中图分类号:S 662.5 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)15-0041-03

“红玛瑙”^[1]甜樱桃是山西省农科院果树研究所选育的新品种,2004年5月通过山西省农作物品种审定委员会审定并命名。该品种抗寒、抗旱、抗病、抗虫、抗裂果、早果、丰产、果实大、品质好、耐贮运,适合日光温室的生产。

山西省北部地区是发展日光温室甜樱桃优势区域^[2-3]。因此有必要针对性地进行需冷量的相关研究。

第一作者简介:宋永宏(1971-),男,硕士,助理研究员,现主要从事大樱桃与杏和李品种选育及栽培等研究工作。E-mail: songyonghong1971@163.com.

责任作者:戴桂林(1956-),男,研究员,岗位科学家,现主要从事核果类果树选育及栽培等研究工作。E-mail: daiguilin1956@sohu.com.

基金项目:山西科技厅攻关资助项目(20150311015-2);果树种质创制和利用山西省重点实验室资助项目。

收稿日期:2016-02-14

该研究以“红玛瑙”甜樱桃为试材,研究其在日光温室栽培中适宜的扣棚、升温时间,从而为其达到优质、高效、丰产、稳产的目标提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料取自山西省太谷县果树研究所大樱桃课题组“红玛瑙”樱桃示范园,树体生长环境具有代表性,肥力中等、壤土、管理水平一致,树体生长良好,树势中庸。

1.2 试验方法

1.2.1 枝条处理方法 于2012年8月至2014年1月在山西省农业大学园艺研究所组培室进行了为期2年的相关试验研究。每年秋季正常落叶开始时(每年的11月20日),采取树体外围中上部的2年生的5类果枝(即混合枝、长果枝、中果枝、短果枝、花簇状果枝)。每隔7d

Influence of 24-epibrassinolide on the Quality of ‘Cabernet Sauvignon’ and the Activity of Sucrose-destabilizing Enzymes

LIU Qiaozhen^{1,2}, QIN Chenliang^{1,2}, DAI Hongjun^{1,2}

(1. School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021; 2. Grape and Wine Engineering Research Center for Education Ministry, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: ‘Cabernet Sauvignon’ wine grape was used as experimental material, and different treatments were set 0.05 mg · L⁻¹, 0.10 mg · L⁻¹, 0.50 mg · L⁻¹ for EBR in grape clusters, meanwhile, the quality of grape berry and the activity of sucrose-destabilizing enzymes were measured. The results showed that the dispose of 0.05 mg · L⁻¹ EBR promoted the accumulation of anthocyanin and total phenols in grape cabernet sauvignon, the dispose of 0.50 mg · L⁻¹ EBR promoted the accumulation of tannin, reduced the content of total acid. The dispose of 0.10 mg · L⁻¹ EBR had a good effect of increasing the activity of sucrose-destabilizing enzymes, and influenced the total soluble solids.

Keywords: ‘Cabernet Sauvignon’ grape; 24-epibrassinolide; quality; sucrose-destabilizing enzyme