

# 干旱胁迫对山葡萄花色苷合成及相关品质的影响

赵 权, 刘广娜, 孔令瑶

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

**摘 要:**以山葡萄‘双丰’为试材,在转色前进行干旱处理,以土壤相对含水量分别为 30%、60%为处理、80%为对照,研究干旱胁迫对山葡萄可滴定酸、花色苷、可溶性固形物含量的影响。结果表明:干旱处理对山葡萄果实滴定酸影响不显著;可显著提高可溶性固形物、总花色苷和二甲基花翠素-3-葡萄糖苷含量,干旱处理使苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性显著高于对照。

**关键词:**干旱胁迫;山葡萄;品质;PAL 酶

**中图分类号:**S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)24-0044-03

山葡萄(*Vitis amurens* Rupr.)属葡萄科落叶藤本植物,也称东北山葡萄,原产中国、朝鲜和前苏联远东地区,具有较强的耐寒性及栽培适应性,因其浆果具有独特的加工特性,又是酿酒的最好材料<sup>[1]</sup>。山葡萄果实色素主要存在于果皮中,以糖苷的形式存在,即花色苷,在山葡萄进入转色期后开始合成<sup>[2-3]</sup>。葡萄中的花色苷具有抗氧化及消除自由基、改善肝脏及血清中的脂质、抗变异原和抗肝炎、防御生物体过氧化、防止动脉硬化和提高视力等多种功能<sup>[4]</sup>。

葡萄为非跃变型果实,浆果中糖份和花色苷的积累从果实转色期开始,贯穿于整个成熟过程,品种、栽培地区和栽培条件都会影响花色苷的含量和各种花色苷的比例。花色苷是类黄酮化合物中的一类,也是人们所熟悉的天然色素,是葡萄与葡萄酒中一类重要的多酚类物质,是赋予葡萄与葡萄酒颜色的主要物质,对其质量有着重要的影响。葡萄的水分状况可以影响类黄酮物质的积累<sup>[5]</sup>,干旱处理被认为是增加黄酮类物质含量,提高葡萄质量的一种有效方法<sup>[6]</sup>,研究表明,对葡萄植株进行干旱处理,促进花色苷的积累,特别是二甲花翠素的积累。干旱处理也可调高类黄酮途径基因的表达<sup>[7]</sup>,包括 F3H、DFR、LDOX、UFGT、GST 基因。同时,干旱处理也可使糖和 ABA 的含量有所增加,这也会刺激糖类运输和花色苷合成途径中转录因子的表达,从而加快花色苷生物合成反应,促进花色苷的积累<sup>[8-9]</sup>。转色后再对果实进行干旱处理,会提高葡萄果实的质量<sup>[10]</sup>。目

前吉林省主要在中东部山区进行大量人工栽培,在白城、大安、镇赉、农安、乾安、长岭等干旱地区已经少量引种栽培,但是在品种选择、抗旱性等方面的研究少见报道。该研究目的在于研究干旱胁迫对山葡萄滴定酸、花色苷、可溶性固形物等成分含量的影响,为筛选抗干旱山葡萄品种提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以 4 a 生盆栽‘双丰’山葡萄品种为试验材料。

### 1.2 试验方法

试验于 2011 年 7~9 月在中国农业科学院特产研究所上面防雨、前面通风的温室内进行。试验采用每日称重补水控制土壤含水量的土壤干旱处理。按照土壤相对含水量由低到高的梯度设置 3 个处理,即每日补水至土壤相对含水量分别为 30%、60%、80% 3 个水平,依次以代号 T1、T2、CK 表示。每日下午 18:00 称重补水以保持试验设计的土壤含水量。2011 年 6 月 9 日控水开始。

### 1.3 项目测定

可溶性固形物含量的测定用手持折光仪法。每次处理 50 粒果,重复 3 次,求平均值;滴定酸含量的测定采用酸碱滴定法;花色苷提取及含量测定参照王华等<sup>[11]</sup>的方法,检测花色苷吸光值;PAL 酶活性采用紫外分光光度计法<sup>[12]</sup>。

高效液相色谱条件:色谱柱采用反相 ODS-C18 柱(250 mm×4.6 mm),流动相:4%磷酸(pH 2):乙腈(HPLC)=85:15;流速:1 mL/min;柱温:30℃;检测波长:520 nm;进样量:5 μL。

标准曲线的绘制:取二甲花翠素-3-葡萄糖苷标准品 0.01 g 加水定容至 50 mL 的容量瓶中,配成 200 μg/mL 的标准储备液。从标准储备液中分别取 0.5、1.0、1.5、

**第一作者简介:**赵权(1967-),男,博士,副教授,研究方向为森林植物资源利用。E-mail:zhaoquanbs@163.com.

**基金项目:**吉林农业科技学院科研资助项目(吉农院合字[2011]第 208 号)。

**收稿日期:**2012-09-17

2.0、2.5 mL 用水定容至 10 mL 容量瓶中,配成 10、20、30、40、50  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液,用 0.22  $\mu\text{m}$  膜过滤,取 5.0  $\mu\text{L}$  上样。以标准品二甲花翠素-3-葡萄糖苷的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。标准品为二甲花翠素-3-葡萄糖苷(Malvidin-3-glucoside)。花色苷标准曲线为  $y = 48.6539x + 5.7621$ ,相关系数达 0.9998,通过标准曲线的平均峰面积( $y$ )计算果皮(干重)中花色苷含量( $x$ ,mg/g)。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫对山葡萄可滴定酸含量的影响

由图 1 可知,山葡萄在 8 月 11 日进入转色期以后,滴定酸含量迅速降低,在成熟时趋于稳定。经方差分析,T1 和 T2 处理的山葡萄可滴定酸含量均与对照无显著差异。

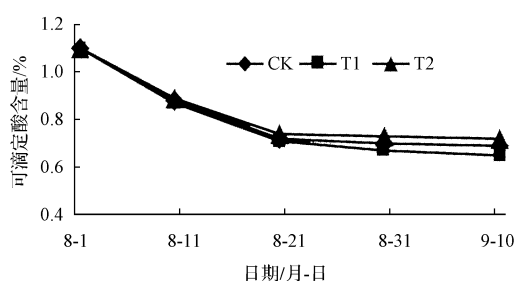


图 1 干旱胁迫对山葡萄可滴定酸含量的影响

### 2.2 干旱胁迫对山葡萄可溶性固形物含量的影响

由图 2 可知,进入转色期 8 月 11 日以后,山葡萄可溶性固形物含量迅速增加。9 月 10 日达到采收期。采收期经干旱处理果实可溶性固形物含量显著高于 CK, T1 和 T2 处理之间无显著差异。经方差分析,T1 和 T2 处理的山葡萄可溶性固形物含量均与对照达到 0.01 水平上的显著差异。

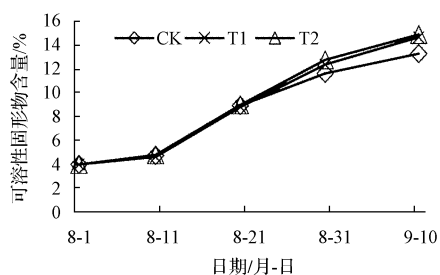


图 2 干旱胁迫对山葡萄可溶性固形物含量的影响

### 2.3 干旱胁迫对山葡萄总花色苷含量的影响

由图 3 可知,总花色苷含量的变化趋势成“S”型,在 8 月 1 日花色苷含量极低。8 月 11~21 日,葡萄果皮开始着色,花色苷逐渐积累 8 月 21 日后,果皮中花色苷含量迅速增加,9 月 10 日花色苷含量最高。对 9 月 10 日总花色苷含量进行 F 检验,结果表明 T1、T2 与对照差异显著,  $T2 > T1 > CK$ 。

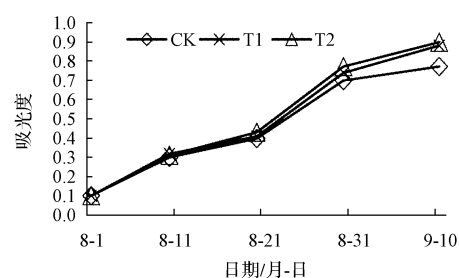


图 3 干旱胁迫对山葡萄总花色苷含量的影响

### 2.4 干旱胁迫对山葡萄二甲花翠素-3-葡萄糖苷含量的影响

由图 4 二甲花翠素-3-葡萄糖苷标准品及样品的高效液相色谱图可知,样品中保留时间 7.341、7.612、7.412 min 与标准品二甲花翠素-3-葡萄糖苷的保留时间 7.310 min 比较接近,可以断定此峰为二甲花翠素-3-葡萄糖苷。

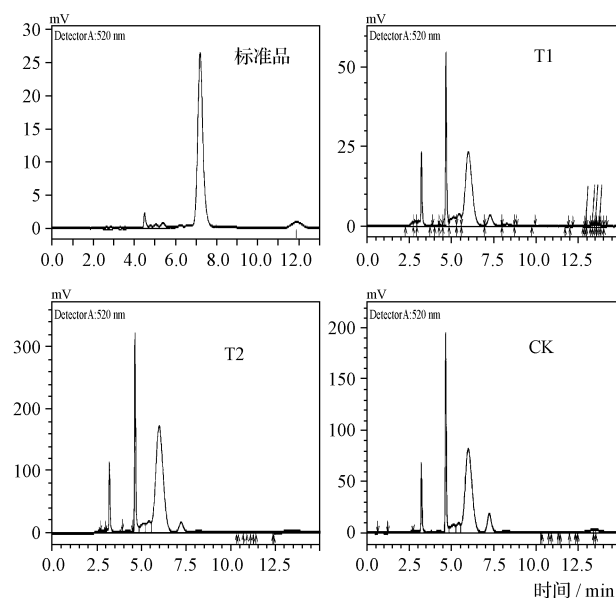


图 4 花色苷色谱图

由图 5 可知,8 月 11 日葡萄转色后随着二甲花翠素-3-葡萄糖苷逐渐积累,处理与对照果皮中二甲花翠素-3-葡萄糖苷含量均呈上升趋势。8 月 21 日后,干旱处理的二甲花翠素-3-葡萄糖苷含量明显高于对照,说明干旱处理可提高山葡萄果皮中二甲花翠素-3-葡萄糖苷含量,有利于山葡萄着色。对 9 月 10 日对二甲花翠素-3-葡萄糖苷含量进行 F 检验,表明 T1、T2 与对照差异显著,  $T2 > T1 > CK$ 。

### 2.5 干旱胁迫对山葡萄果皮中苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响

PAL 酶是葡萄花色苷生物合成的第 1 个酶,对葡萄花色苷的生物合成起重要作用。由图 6 可知,自 8 月 1~11 日转色期,PAL 酶活性呈下降趋势,转色期至成熟,山葡萄果皮中 PAL 酶活性均呈不断增加的趋势,自 8 月 21

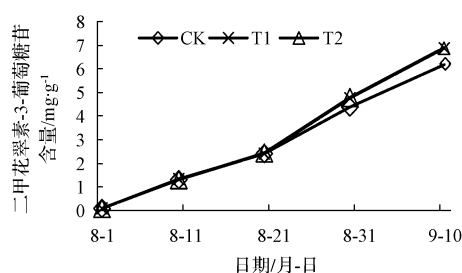


图5 干旱胁迫对二甲花翠素-3-葡萄糖苷含量的影响

日至9月10日增加缓慢,随着果实成熟,颜色加深,果皮中PAL酶活性不断增加。采收时处理与对照PAL酶活性无明显差异。对T1和T2处理的葡萄果实PAL酶活性进行方差分析, $F=5.69$ ,查 $F$ 界值表可知 $F_{0.05}(2,6)=5.14$ , $F>F_{0.05}$ , $P<0.05$ 即可认为T1和T2显著提高了葡萄果实PAL酶活性。

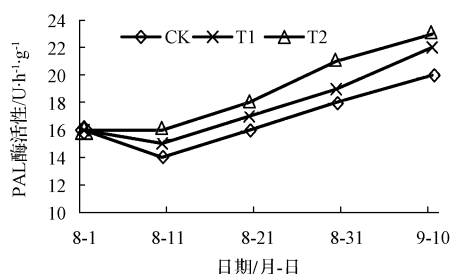


图6 干旱胁迫对PAL酶活性的影响

### 3 结论与讨论

该试验结果表明,干旱处理对山葡萄果实可滴定酸影响不显著;可显著提高可溶性固形物、总花色苷和二甲花翠素的含量,干旱处理使PAL酶活性显著高于对照。一般在干旱情况下,在葡萄生长的不同阶段进行干旱处理对果实中花色苷的影响也都不相同。果实生长早期进行干旱处理能加快花色苷生物合成,增加糖类物质的积累,但是并非对所有反应都有影响。而且在转色初期,果实的膨大受到严重的抑制<sup>[13]</sup>。虽然在转色期进行干旱处理对提高花色苷合成相关基因的表达只是短暂的,但这对果实的后期生长却有着深远的影响<sup>[7]</sup>。

## Effect of Drought Stress on the Anthocyanins Synthesis and Related Quality of *Vitis amurensis*

ZHAO Quan, LIU Guang-na, KONG Ling-yao

(Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** Taking 'Shuangfeng' of *Vitis amurensis* as materials, drought treatments were conducted before colouring, with soil water content were 30%, 60% as the treatments, and 80% as the control. The results showed that the effect of drought treatment on the content of titratable acid of *Vitis amurensis* was not significant; the content of soluble solids, total anthocyanin and malvidin-3-glucoside were all significantly increase. The drought treatment processing PAL activity was significantly higher than the control.

**Key words:** drought stress; *Vitis amurensis*; quality; PAL enzyme

转色后再对果实进行干旱处理,会提高葡萄果实的质量<sup>[10]</sup>。该试验只探讨了干旱胁迫对一种单体花色苷和一种结构基因酶活的影响,但是山葡萄花色苷和结构基因种类很多,干旱胁迫是否对其它种类花色苷及结构基因表达的影响还待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 李华. 现代山葡萄酒工艺学[M]. 2版. 西安:陕西人民出版社,2001.
- [2] 苏淑钗. 葡萄着色问题研究进展[J]. 葡萄栽培与酿酒,1994(2):1-4.
- [3] 赵权. 葡萄酚类物质及其生物合成相关结构基因表达[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2010.
- [4] 唐传核,彭志英. 天然花色苷类色素的生理功能及应用前景[J]. 食品添加剂,2000(1):26-28.
- [5] Kennedy J A, Matthews M A, Waterhouse A L. Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2002, 53(4): 268-274.
- [6] Koundouras S, Marinou V, Gkouloti A, et al. Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(14): 5077-5086.
- [7] Castellarin S D, Matthews M A, Di Gasparo G, et al. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries[J]. Planta, 2007, 227(1): 101-112.
- [8] Gollop R, Farhi S, Perl A. Regulation of the leucoanthocyanidin dioxygenase gene expression in *Vitis vinifera* [J]. Plant Science, 2001, 161(3): 579-588.
- [9] Gollop R, Even S, Colova-Tsolova V, et al. Expression of the grape dihydroflavonol reductase gene and analysis of its promoter region[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(373): 1397-1409.
- [10] Girona J, Marsal J, Mata M, et al. Phenological sensitivity of berry growth and composition of Tempranillo grapevines (*Vitis vinifera* L.) to water stress[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2009, 15(3): 268-277.
- [11] 王华, 营葵, 郭耀东. 葡萄果皮花色苷提取工艺的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008(2): 129-134.
- [12] 赵宗芳, 赵勇, 吴桂法. 果实花青素含量与PAL活性关系的研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(2): 199-200.
- [13] Thomas T R, Matthews M A, Shackel K A. Direct in situ measurement of cell turgor in grape (*Vitis vinifera* L.) berries during development and in response to plant water deficits[J]. Plant Cell and Environment, 2006, 29(5): 993-1001.