

根域限制对“红地球”葡萄果实糖含量和蔗糖代谢相关酶活性的影响

裴 帅¹, 闫梅玲^{1,2}, 董业雯¹, 王振平¹

(1. 宁夏大学 农学院, 葡萄与葡萄酒教育部工程研究中心, 宁夏 银川 750021;

2. 中粮长城葡萄酒(宁夏)有限公司, 宁夏 银川 750024)

摘 要:以3年生的“红地球”葡萄为试材,测定其果实中葡萄糖、果糖和蔗糖含量以及蔗糖代谢相关酶-可溶性酸性转化酶(SAI)、可溶性中性转化酶(SNI)、细胞壁转化酶(CBAI)和蔗糖合成酶(SSII)活性,以研究葡萄果实糖类积累与蔗糖代谢相关酶活性的关系。结果表明:果实成熟期根域限制栽培果实的可溶性总糖含量明显高于对照;与对照组相比,根域限制组葡萄糖含量提高了12.8%,果糖含量提高了3.4%,蔗糖含量提高了20.0%,总糖含量提高了10.8%。说明根域限制栽培显著提高了“红地球”葡萄果实成熟期的葡萄糖、蔗糖和总糖含量,糖含量的提高受到了SAI、SNI、CBAI、SSII活性的调控;根域限制栽培显著提高了转色期SAI和CBAI的活性和成熟期SNI和SSII的活性。

关键词:根域限制;酶活性;糖积累

中图分类号:S 663.101 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)06-0025-06

根系是果树的重要组成部分。果树的根系与地上部器官通过筛管和维管束的连接,吸收矿质元素

第一作者简介:裴帅(1990-),男,河南南阳人,硕士研究生,研究方向为葡萄栽培与酿酒。E-mail:1191665683@qq.com.

责任作者:王振平(1965-),男,陕西绥德人,博士,研究员,硕士生导师,研究方向为葡萄栽培与酿酒。E-mail:dr. wangzhp@163.com.

基金项目:国家现代产业体系技术体系资助项目(CARS-30-ZP-8)。

收稿日期:2016-09-26

和水分,维持着果树的生长。根系的生长与体积的变大,会引起地上部器官生长量的增加。随着果树栽培技术的不断改进,以及消费者对果实产量和质量要求的不断提高,栽培方式正逐渐由大冠稀植型向矮化密植型过渡,通过研究果树根系修剪技术以达到控制树冠的目的^[1]。但由于根系生长在地下,对根系的修剪很难操作。到20世纪80年代,人们发现盆栽植物生长受到抑制的现象,开始了根域限制栽培方式的探索。到20世纪90年代,根域限制被视为一种新型的栽培技术,得到了较快的发展。

transmittance) in this study. The results showed that single-layer, two-layer membrane shadow made container seedlings grow stronger, including chlorophyll relative content, concentration of glutathione (GSH) as well as the activities of peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) were significantly increased compared to the control, while the concentrates of MDA significantly decreased; the maximum photochemical efficiency of PSII (Fv/Fm), PSII potential activity (Fv/Fo), electron transport rate (ETR), photochemical quenching (qP) increased, while non-photochemical quenching (qN) decreased compared with the control; each physiological index of container seedlings between the control and the three-layer membrane shade were not significant. Therefore, moderate summer shadow treatment could promote the growth of 'Hongyang' kiwifruit container seedlings.

Keywords: kiwifruit; light intensity; physiological characteristics; leaf structure

这种栽培技术已经在葡萄^[2]、柑橘^[3]、苹果^[4]、桃^[5]、樱桃^[6]等果树上进行了研究,发现在控制地上部营养生长、提高产量和果实品质等方面都有积极的作用^[7]。目前,根域限制技术在葡萄种植上的应用基本成熟,但在其它果树植物的应用技术还不完善^[8]。王博^[9]研究认为,葡萄在根域限制下树体生长受到抑制,而果实生长自转色期开始高于对照,果实品质显著提高,可溶性固形物、pH、糖酸比增加,果糖、葡萄糖和总糖含量也显著提高。为了探索根域限制对葡萄果实糖分积累影响机制,该试验以“红地球”葡萄为试材,研究了根域限制对“红地球”果实糖分积累及蔗糖代谢相关酶活性的影响,以为根域限制提高“红地球”果实品质研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在宁夏贺兰山东麓小任果业有限责任公司葡萄基地进行,选用3年生“红地球”葡萄为试材,定植的株行距为0.6 m×1.8 m,整形方式为单干约特整形。

1.2 试验方法

试验采用3年生大苗定植,选用根域限制和对照2种模式定植。根域限制采用坑式栽培,将植株栽植于宽80 cm、深60 cm的沟内,沟内铺单层棚膜,按照667 m²施用5 m³腐熟有机肥与表土均匀混合填入定植沟中。对照采用将植株栽植于相同基质、相同容积、不铺棚膜的定植沟内。处理与对照均按照“红地球”葡萄正常需水需肥规律进行水、肥管理,栽培管理条件一致,每个处理定植50株。

于盛花期选取花期一致的植株进行挂牌标记。自花后25 d(4月10日)起,每隔10 d采样一次。其中,花后25 d为幼果期、花后34~45 d为膨大期、花后55 d为转色期、花后65~95 d为成熟期。分别从标记植株的各方位随机采取正常果实300粒带回实验室,存放于-80℃冰箱。随后,测定果实的含糖量和蔗糖相关酶活性。

1.3 项目测定

1.3.1 果实糖分含量的测定 葡萄糖、果糖、蔗糖、总糖含量测定参照薛应龙^[10]的方法,取样重复测量3次。

1.3.2 蔗糖代谢相关酶活性测定 蔗糖代谢相关酶的提取参照赵智中等^[11]、王永章等^[12]、王银川等^[13]的方法。取样重复3次。所有操作在0~4℃条件下进行。SPS和SS的提取与酸性转化酶相似,

只是提取缓冲液为200 mmol·L⁻¹ Hepes-NaOH(含5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.1% β-巯基乙醇, 0.05% Triton-X 100, 0.05% BSA, 2% PVPP, 1 mmol·L⁻¹ EDTA, 1 mmol·L⁻¹ EGTA, 10 mmol·L⁻¹ 抗坏血酸钠, 10 mmol·L⁻¹ 半胱氨酸-盐酸和2%甘油, pH 7.5)。转化酶的提取:称取1 g样品,置于研钵内加少量石英砂和5 mL预冷的提取缓冲液(200 mmol·L⁻¹ 磷酸钾缓冲液, 5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 0.1% β-巯基乙醇, 0.05% Triton-X 100, 0.05% BSA, 2% PVPP, pH 7.5)冰浴研磨成匀浆,15 000 g离心20 min,取上清液,沉淀用5 mL提取缓冲液再取一次合并上清液,用稀释10倍的提取缓冲液(不含PVPP)透析24 h用于可溶性转化酶活性的测定。细胞壁转化酶的提取:提取可溶性蛋白质后,加5 mL提取缓冲液,混匀后离心弃上清留沉淀,重新加入5 mL提取缓冲液(含0.5 mol·L⁻¹ NaCl),充分混匀后低温(4℃)浸提24 h,15 000 g离心20 min,取上清液,沉淀用5 mL提取缓冲液再取一次合并上清液,透析后用于细胞壁转化酶活性的测定。透析袋处理:把透析袋剪成适当长度(10~20 cm)的小段;在大体积的2%(W/V)碳酸氢钠和1 mmol·L⁻¹ EDTA(pH 8.0)中将透析袋煮沸10 min;用蒸馏水彻底清洗透析袋,放在1 mmol·L⁻¹ EDTA(pH 8.0)中将之煮沸10 min;冷却后,存放于4℃,必须确保透析袋始终浸没在溶液内;用前在透析袋内装满水然后排出,将之清洗干净。蔗糖代谢相关酶SPS、SS活性测定参照赵智中等^[11]方法。SAI、CBAI活性测定参照赵智中等^[11]和王永章等^[12]、王银川等^[13]的方法,略有改动。在1 mL反应体系中含80 mmol·L⁻¹ 醋酸-磷酸钾(pH 4.5),100 mmol·L⁻¹ 蔗糖,0.2 mL酶提取液;37℃反应30 min,加入1 mL DNS试剂终止反应,沸水浴5 min,冷却后测定A₅₄₀。用杀死的酶液作对照。SNI活性测定方法与SAI类似,只是醋酸-磷酸钾缓冲液的pH为7.5。

1.4 数据分析

采用Excel 2003、SAS(8.2)软件进行处理分析。“红地球”果实糖分含量与蔗糖代谢相关酶活性之间的关系,用直线相关进行分析。根域限制对“红地球”葡萄果实糖分含量与蔗糖代谢相关酶活性的影响采用t检验进行分析。

2 结果与分析

2.1 根域限制对“红地球”葡萄果实糖分含量的影响

由图1可知,随果实的发育,葡萄糖含量基本呈

上升趋势。果实发育前期,“红地球”葡萄果实葡萄糖含量增长较缓慢,而在花后 65 d 后,其含量迅速增长,二者含量均迅速上升,除花后 45 d 和 65 d 外,根域限制处理的葡萄糖含量均高于对照,整个生长期,与对照相比,根域限制处理的葡萄糖含量提高了 12.8%。

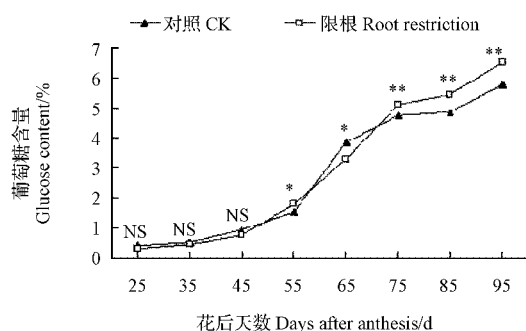


图 1 根域限制对“红地球”葡萄果实葡萄糖含量的影响

Fig. 1 Effects of root restriction on glucose content in grape fruits

由图 2 可知,红地球葡萄果实果糖含量的变化趋势与葡萄糖相似,根域限制处理果糖含量在花后(除花后 65 d 和 75 d 外)均高于对照,其它时间对照与处理均无显著差异,采收时处理相对于对照果糖含量提高了 3.4%。

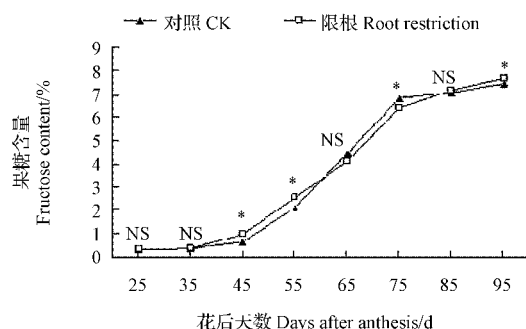


图 2 根域限制对“红地球”葡萄果实果糖含量的影响

Fig. 2 Effects of root restriction on fructose content in grape fruits

由图 3 可知,对蔗糖而言,域限制栽培与对照在花后 65 d 之前,除了花后 55 d 时处理显著高于对照,其它时间均无显著差异。但是花后 75 d 至采收,根域限制处理蔗糖含量均显著高于对照,而且采收时处理相对于对照蔗糖含量提高了 20.0%。

由图 4 可知,根域限制栽培与对照相比,葡萄果实总糖含量在花后 75 d 之前差异均未达到显著水平

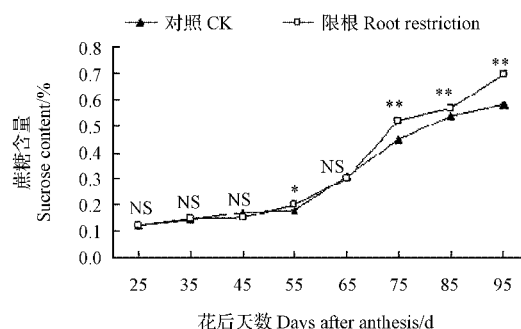


图 3 根域限制对“红地球”葡萄果实蔗糖含量的影响

Fig. 3 Effects of root restriction on sucrose content in grape fruits

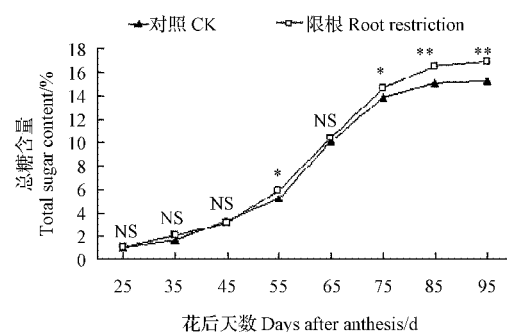


图 4 根域限制对“红地球”葡萄果实总糖含量影响

Fig. 4 Effects of root restriction on total sugar content in grape fruits

(除花后 55 d 外),但自花后 75 d 起,根域限制处理总糖含量极显著高于对照,采收前直至采收处理均极显著高于对照,采收时总糖相对于对照总糖含量提高了 10.8%。

2.2 根域限制对“红地球”葡萄果实蔗糖代谢相关酶活性的影响

由图 5 可知,在果实整个发育过程中,根域限制栽培和对照处理葡萄果实中的 SAI 活性呈抛物线变化规律,在果实第一次膨大期,处理与对照葡萄果实中 SAI 活性均逐渐增加,其活性无差异;在转色期(花后 55 d),根域限制和对照同时达到峰值,此时至花后 65 d 根域限制栽培葡萄果实中的 SAI 活性极显著高于对照。结合图 3 可以看出,在花后 55 d,SAI 活性达到峰值时,果实中蔗糖占总糖的比例已由起初的 11.5% 降至最低点(3.42%),之后二者 SAI 活性均逐渐降低,但仍维持在较高水平,在此期间蔗糖占总糖的比例一直维持在 3%~4% 的较低水平且变化不大。

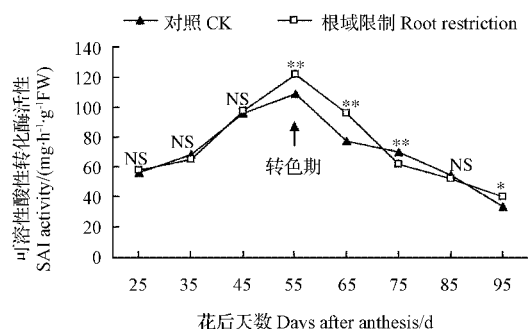


图 5 根域限制对“红地球”葡萄果实可溶性酸性转化酶活性的影响
Fig. 5 Effects of root restriction on soluble acid invertase activity in grape fruits

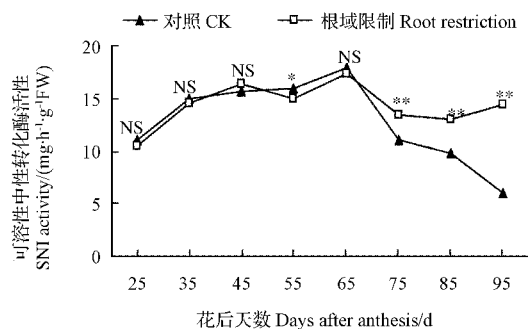


图 6 根域限制对“红地球”葡萄果实可溶性中性转化酶活性的影响
Fig. 6 Effects of root restriction on soluble neutral invertase activity in grape fruits

由图 6 可知,在花后 25~65 d,根域限制栽培与对照果实的 SNI 活性除了在花后 55 d 时处理显著低于对照,其它时间均无显著差异。根域限制栽培与对照同时在花后 65 d 达到最大值,随后降低,至采收时降至最低值;而根域限制栽培的葡萄果实采收前降幅明显减弱,到采收时又有所上升,这段时期根域限制处理果实的 SNI 活性均极显著高于对照。

图 7 表明,根域限制栽培的葡萄果实发育过程中 CBAI 活性变化趋势不同于对照,对照呈单峰曲线,而根域限制栽培葡萄果实花后 55 d 达到最高峰后,到花后 75 d 又出现了一个小高峰,且在 2 个峰值时期,根域限制栽培葡萄果实的 CBAI 活性均极显著高于对照。结合图 1~4 结果可以看出,在根域限制处理的 CBAI 达到第一个峰值(花后 55 d)时葡萄糖、果糖、蔗糖和总糖含量均显著高于对照;在根域限制处理的 CBAI 达到第二个峰值

(花后 75 d)时,葡萄糖含量极显著高于对照,果糖含量显著低于对照,蔗糖含量极显著高于对照,总糖含量显著高于对照。

由图 8 可知,在葡萄果实发育过程中,根域限制栽培与对照葡萄果实中总转化酶的变化趋势基本一致,但根域限制处理的葡萄果实总转化酶在花后 55、75 d 和采收时均极显著高于对照,其它时间差异均不显著。

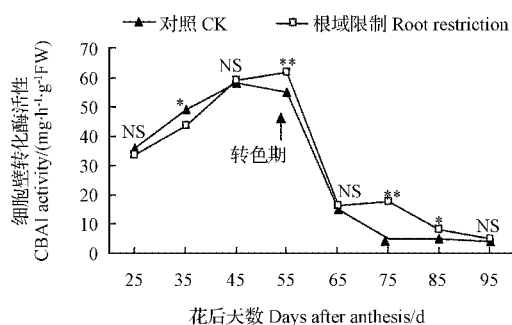


图 7 根域限制对“红地球”葡萄果实细胞壁转化酶活性的影响
Fig. 7 Effects of root restriction on cell wall-bound acid invertase activity in grape fruits

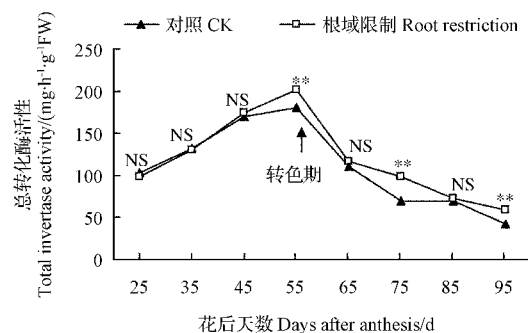


图 8 根域限制对“红地球”葡萄果实总转化酶活性的影响
Fig. 8 Effects of root restriction on total invertase activity in grape fruits

由图 9 可知,在葡萄转色期之前,根域限制栽培与对照果实 SSI 活性基本一致,而到了成熟期,根域限制处理的 SSI 活性极显著高于对照,蔗糖的含量也是在这一时期极显著高于对照,而且相对含量提高了 20.0%(图 3)。由此可见,根域限制处理果实发育后期蔗糖的显著提高与 SSI 活性的显著提高有关。

3 讨论

3.1 根域限制栽培技术对葡萄果实含糖量的影响

根域限制能改变光合产物的分配规律,使葡萄

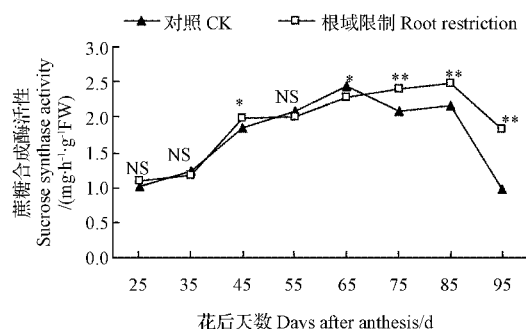


图9 根域限制对“红地球”葡萄果实蔗糖合成酶活性的影响

Fig. 9 Effects of root restriction on sucrose synthase activity in grape fruits

果实中的糖代谢发生某种变化。谢兆森等^[14]研究表明,根域限制处理的葡萄果实在第二次快速生长期间有机酸含量显著下降,糖分积累显著提高。随着果实 pH 的升高,根域限制处理的葡萄果实的花青素、总蛋白质和游离氨基酸增加量高于对照。谢周等^[15]发现,根域限制可能主要影响果实发育后期糖代谢相关酶活性,进而影响葡萄的糖代谢和积累,并显著提高果实品质。该研究也表明,根域限制栽培的“红地球”葡萄果实的总糖含量在进入转色期以后就一直高于对照,而且随着果实的成熟差异越来越明显,并在采收时总糖含量与对照相比提高了 1.64%。与前人研究结果基本一致。

3.2 根域限制栽培技术对葡萄果实中相关酶活性的影响

谢兆森^[16]认为,果实进入第二次快速生长期后,果实中酸性转化酶和中性转化酶活性开始升高,根域限制果实中的酸性转化酶和中性转化酶活性都显著高于对照,根域限制葡萄中蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶活性变化不显著。卢彩玉等^[17]认为,根域限制栽培可以显著提高“巨玫瑰”果实中可溶性糖的含量、糖积累期间的 AI 活性和成熟时的 NI 活性,但对其它酶活性影响小。根域限制可能主要影响果实发育后期糖代谢相关酶活性,进而影响葡萄的糖代谢和积累,并显著提高果实品质^[16]。该试验研究表明,根域限制栽培技术使成熟期的 SNI 和 SSI 活性显著高于对照,这为葡萄糖和蔗糖的积累做出了贡献,从而提高了采收时的总糖含量。除此之外,根域限制也显著提高了转色期 SAI 和 CBAI 的活性,这也为已糖的积累打下了一定的基础。但是使以上几种酶活性提高的原因还不清楚,需要进一步的

研究。

3.3 根域限制栽培技术对葡萄果实其它方面的影响

根域限制栽培技术可以避免传统栽培条件下施肥的盲目性,贪青旺长,果实成熟度差的现象;能抑制新梢旺长,可以使植株矮化密植,也改变了光合产物的分配,花芽增加,实现高产优质^[8]。WANG 等^[18-20]研究发现,“巨峰”葡萄树在限根栽培条件下,从萌芽至休眠期,在植株的主干、母枝、新梢、叶片、树液中,氮素含量明显偏低。进一步研究证实,限根栽培使巨峰葡萄根系的水分和养分的吸收能力下降,单位时间内的营养吸收量低于对照,树液的氨基酸、 NO_3^- 浓度明显下降。IMAI 等^[21]研究发现,葡萄根域限制栽培可显著抑制营养生长,显著提高坐果率、果皮花青素含量和果实品质。由于细胞分裂素和脱落酸等内源生长激素的合成场所在根系,根域限制必然影响内源激素的合成,RICHARD 等^[22]的研究发现,内源激素参与了根域限制的调控过程。STOLL 等^[23]的研究表明,部分根域限制栽培诱导了葡萄根系产生 ABA,作为根系感应的胁迫信号传递给叶片,调节了叶片的气孔反应(开闭)。

4 结论

根域限制栽培显著提高了“红地球”葡萄果实成熟期的葡萄糖、蔗糖和总糖含量。果实糖含量受到 SAI、SNI、CBAI、SSI 的调控。根域限制栽培显著提高了转色期 SAI 和 CBAI 的活性和成熟期 SNI 和 SSI 的活性,有利于果实糖分积累。

参考文献

- [1] 傅友. 果树剪根控冠技术研究:文献综述[J]. 园艺学报, 1993, 20(4): 346-352.
- [2] IMAI S, OKAMOTO G, ENDO M. Effect of dense planting and root system control on attaining greater early production and fruit stability of tetraploid grapes[J]. Bull Hiroshima Fruit Tree Expt Sta, 1987(12): 1-9.
- [3] SAWANO Y. Planting types and problems in satsuma mandarin[J]. Japan Soc Hort Sci, 1993, 62(suppl. 2): 13-25.
- [4] MYERS S C. Root restriction of apple and peach with in-ground fabric containers[J]. Acta Hort, 1992, 322: 215-219.
- [5] HOMMI Y, SAKAKIBARA M, KIMURA T. Capacity of root zone watering and fertilizer application for peach trees in container culture[J]. Research Bulletin of the Aichiken Agriculture Research Center, 1995, 27: 251-258.
- [6] WEBSTER A D, ATKINSON J C, VAUGHAN J S. Controlling the shoot growth and cropping of sweet cherry trees using root pruning or root restriction techniques[J]. Acta Hort, 1997, 451: 643-649.
- [7] TANIKUTI T. Rooting-zone restriction for satsuma mandarin[J].

Agri and Hort, 1993, 68: 490-496.

[8] 王世平, 张才喜, 罗菊花, 等. 果树根域限制栽培研究进展[J]. 果树学报, 2002, 19(5): 298-301.

[9] 王博. 根域限制促进鲜食葡萄果皮花色营合成的机制研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2013.

[10] 薛应龙. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 206-225.

[11] 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.

[12] 王永章, 王小芳, 张大鹏. 苹果果实转化酶的种类和特性研究[J]. 中国农业大学学报, 2001, 6(5): 9-14.

[13] 王银川, 刘效义, 汪泽鹏. 宁夏贺兰山东麓气候条件及品种区划[J]. 宁夏科技, 2002(1): 36-37.

[14] 谢兆森, 李渤, 许文平, 等. 根域限制对葡萄果实发育和主要营养物质含量的影响[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(5): 927-930.

[15] 谢周, 孙兴民, 张萌, 等. 根域限制对‘宝满’葡萄光合特性及糖代谢的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(22): 190-196.

[16] 谢兆森. 根域限制对葡萄果实发育、源库器官及其输导组织结构的影响[D]. 上海: 上海交通大学, 2010.

[17] 卢彩玉, 郑小艳, 贾惠娟, 等. 根域限制对‘巨玫瑰’葡萄果实可溶性糖含量及相关代谢酶活的影响[J]. 园艺学报, 2011, 38(5): 825-

832.

[18] WANG S P, OKAMOTO G, HIRANO K, et al. Effect of root restriction on vine nutrition of Kyoho grape from dormancy to anthesis[J]. J Japan Soc Hort Sci, 1997, 66(suppl. 1): 86-87.

[19] WANG S P, OKAMOTO G, HIRANO K, et al. Effects of rooting-zone restriction on the change carbohydrates and nitrogenous compounds in Kyoho grapevines during winter dormancy and early shoot growth[J]. J Japan Soc Hort Sci, 1998, 67: 577-582.

[20] WANG S P, OKAMOTO G, HIRANO K, et al. Effects of restricted rooting volume on vine growth and berry development of ‘Kyoho’ grapevines[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2001, 52(3): 248-253.

[21] IMAI S, FUJIWARA T, TANAKA S, et al. Effect of soil moisture on vine growth and fruit production of ‘Kyoho’ grapes growing on restricted rooting volume[J]. Environ Control in Biol, 1991, 29: 133-140.

[22] RICHARD D, ROWE R N. Effects of root restriction, root pruning and 6-benzylaminopurine on the growth of peach seedlings[J]. Ann Bot, 1977, 41: 729-740.

[23] STOLL M B, LOVEYS B, DRY P. Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine[J]. J Exp Bot, 2000, 51: 1627-1634.

Effect of Root Restriction on Sugar Quantity and Activities of Sucrose-metabolizin Enzymes in ‘Red Globe’ Grape

PEI Shuai¹, YAN Meiling^{1,2}, DONG Yewen¹, WANG Zhenping¹

(1. School of Agriculture, Ningxia University/Engineering Research Center of Grape and Wine, Ministry of Education, Yinchuan, Ningxia 750021; 2. China, COFCO Greatwall Wine (Ning Xia) Co. Ltd., Yinchuan, Ningxia 750024)

Abstract: The content of sucrose, glucose, fructose and the activities of sucrose-metabolizin enzymes (soluble acid invertase, soluble neutral invertase, cell wall-bound acid invertase, sucrose synthase and sucrose phosphate synthase) in the grape berry of ‘Red Globe’ were measured. This study aimed to explore the effect of root restriction on sugar metabolism and the activities of sucrose-metabolizin enzymes. The results showed that, the total soluble sugar content under root restriction was significantly higher than the control during grape berry maturing. Compared with the control group, the glucose content under root restriction increased by 12.8%, fructose content increased by 3.4%, sucrose content increased by 20.0%, total sugar content increased by 10.8%. It showed that, root restriction significantly improved the content of glucose, sucrose and total sugar during ‘Red Globe’ grape berry maturing. The addition of soluble sugar content was controlled by activities of SAI, SNI, CBAI, SSII. Root restriction greatly increased the activities of SAI and CBAI at the turning color stage and increased the activities of SNI and SSII at the late stage of fruit development.

Keywords: root restriction; activities of enzymes; accumulation of sugars