

河西地区赤霞珠葡萄果实发育期糖代谢及 相关酶活性的变化

边彩燕¹, 姜寒玉², 朱永永¹, 陈超¹, 熊春蓉¹, 赵贵宾¹

(1. 甘肃省农业技术推广总站, 甘肃 兰州 730000; 2. 南京师范大学物理科学与技术学院, 江苏 南京 210046)

摘要: 以采自甘肃紫轩葡萄酒业葡萄园的酿酒葡萄赤霞珠为试验材料, 对果实中葡萄糖、果糖、蔗糖含量及糖代谢相关酶活性进行测定。结果表明, 随着赤霞珠葡萄果实的生长, 蔗糖、葡萄糖、果糖含量显著上升。不同生长发育阶段, 赤霞珠果实中酸性转化酶、中性转化酶、蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶活力不同。相关性分析表明, 整个发育期的葡萄糖、果糖、蔗糖与酸性转化酶活性存在显著正相关, R 值分别为 0.789、0.726、0.719; 葡萄糖、果糖、蔗糖与中性转化酶活性、蔗糖磷酸合成酶、蔗糖合成酶活性均表现为极显著正相关。

关键词: 赤霞珠; 糖代谢; 转化酶; 合成酶

中图分类号: S663.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2021)06-0042-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2021.06.011

Changes in Sugar Metabolism and Related Enzyme Activities of Cabernet sauvignon Grape Fruits during Development in Hexi Region

BIAN Caiyan¹, JIANG Hanyu², ZHU Yongyong¹, CHEN Chao¹, XIONG Chunrong¹, ZHAO Guibin¹
(1. Gansu Agricultural Technology Extension Station, Lanzhou Gansu 730000, China; 2. College of Physical Science and Technology, Nanjing Normal University, Nanjing Jiangsu 210046, China)

Abstract: *Cabernet sauvignon* was selected from the vineyard of Gansu Zixuan Wine Industry as the experimental material, the contents of glucose, fructose, sucrose and the activities of enzymes related to sugar metabolism in fruits were determined. The results showed that the content of sucrose, glucose and fructose increased significantly with the growth of *Cabernet sauvignon* grapes. The activities of acid invertase, neutral invertase, sucrose synthase and sucrose phosphate synthase were different in *Cabernet sauvignon* fruits at different growth and development stages. Correlation analysis showed that glucose, fructose, sucrose and activity of acidic invertase activity in the whole development period were significantly positively correlated, R values of 0.789, 0.726 and 0.719, respectively. The activities of neutral invertase, sucrose phosphate synthase and sucrose synthase were significantly positively correlated with glucose, fructose and sucrose.

Key words: *Cabernet sauvignon*; Sugar metabolism; Invertase; Synthetase

葡萄在我国属于六大水果之一, 在果树种植中有着举足轻重的作用^[1-2]。甘肃省

收稿日期: 2021-03-19

作者简介: 边彩燕(1989—), 女, 甘肃皋兰人, 农艺师, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)18298344651。Email: 1498233518@qq.com。

通信作者: 赵贵宾(1963—), 男, 甘肃皋兰人, 推广研究员, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)13519400318。Email: 530241799@qq.com。

河西走廊是我国重要的葡萄种植基地，历史悠久，已形成了独具特色的葡萄酒文化，基本形成了武威、张掖、嘉峪关、酒泉四大产区。该区域内的酿酒葡萄，具有粒大、色泽好、气味浓郁等特点。葡萄浆果中包含多种糖类，如葡萄糖、果糖及蔗糖，含量一般为15%~25%。糖不单单是口感的代名词，也决定着浆果维生素、芳香物质的含量，所以，含糖量是评价果实品质的重要指标之一。目前已经发现，植物体内糖代谢直接影响着植物的生长发育，以强化植物生育及品质为根本目的，围绕糖代谢过程进行探析，具有一定的现实意义^[3]。葡萄果实品质的高低往往对应着糖种类的多少及含量的大小，可以说，糖分的种类、含量决定着果实本身的营养价值、风味口感等各类品质^[4-6]。在葡萄上开展糖代谢相关的研究，深入了解其全生育期内糖代谢的转运规律，对认识葡萄果实糖的来源、代谢相关酶的分布情况、果实生长阶段糖含量、相关酶活性的变化特征具有积极作用，且能够为调控果实糖代谢及其相关研究带来真实性的数据支持。有关糖代谢及相关酶的转运规律在香蕉^[7]、荔枝^[8]、猕猴桃^[9]、纽荷尔脐橙^[10]、苹果^[11]、枸杞^[12]等一些树种中已有报道。我们基于赤霞珠葡萄果实生长期，糖含量及蔗糖代谢相关酶活性变化进行研究，旨在探索赤霞珠果实生长过程中糖代谢的转运规律和调控机制，进而为果实品质的改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

选取甘肃紫轩葡萄酒业酿酒葡萄种植园为试验区。试验区位于祁连山北麓，北纬39°6'，大陆性荒漠气候。年平均气温为8.0℃，其中最高、最低气温分别为38.6、-31.7℃。年平均降水量为73.3 mm；太阳总辐射约等于560.12~576.84 kJ/cm²。土壤pH 7.5~8.8^[13]。

1.2 供试材料

供试酿酒葡萄赤霞珠由甘肃紫轩葡萄酒业提供。

1.3 试验方法

选择长势良好、均匀的5株赤霞珠为试验树，于7、8、9月的15日左右分别取样。分别从每株试验树的同一部位选取大小相当的果实样品，混匀后置于超低温保存箱备用。

1.4 测定的项目及方法

1.4.1 糖的提取与测定 先将果实从超低温保存箱中取出，对其进行粗加工。取0.5 g经粗加工的样品置于试管中，添加5 mL蒸馏水，并搅拌均匀，置于沸水浴中，40 min后6 000 r/min离心10 min，取上清液。糖的测定均参照蔡武城^[14]的方法。用蒽酮比色法测定可溶性糖含量，用分光光度法测定葡萄糖含量，用钼酸铵比色法测定果糖含量，用Roe比色法测定蔗糖含量。

1.4.2 酶的提取与测定 取样品0.5 g置于试管之中，添加Hepes-NaOH(200 mmol/L, pH 7.5)缓冲液共计5 mL，将试管置于冰浴一段时间并研磨均匀，10 000 r/min冷冻离心10 min后取其上清液。酶的测定：酸性转化酶、中性转化酶按Nielsen的方法^[15]；蔗糖合成酶按Douglas和Tsai等的方法^[16-17]；蔗糖磷酸合成酶按Wardlaw的方法^[18]。

1.5 数据处理与分析

应用Excel 2003、SPSS 17.0对数据进行处理，在此基础上绘制相应图表。

2 结果与分析

2.1 果实发育过程中糖含量的变化

2.1.1 蔗糖 从图1可以看出，随着果实的生长，蔗糖含量显著上升。8、9月份蔗糖含量分别为6.12、11.09 mg/g，比7月份(2.26 mg/g)分别显著提高了172%、392%，而9月份比8月份显著提高了81%。

2.1.2 葡萄糖 从图2可以看出，随着果实

的生长，葡萄糖含量显著上升。8、9月份的葡萄糖含量分别为 27.32 、 51.03 mg/g ，比7月份分别显著提高了 946% 、 1855% ，而9月份比8月份显著提高了 87% 。

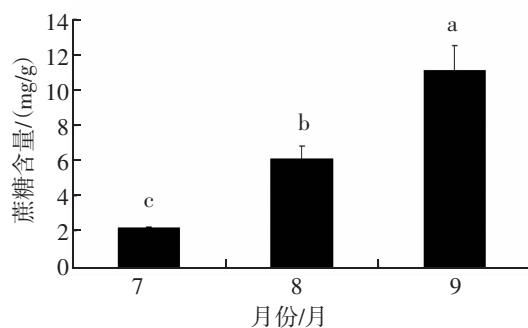


图1 赤霞珠果实发育过程中蔗糖的含量

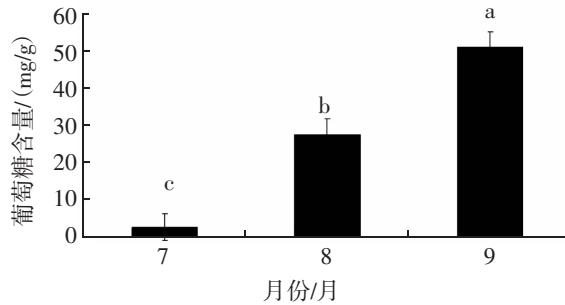


图2 赤霞珠果实发育过程中葡萄糖的含量

2.1.3 果糖 从图3可以看出，随着果实的生长，果糖含量显著上升。8、9月份的果糖含量分别为 57.56 、 103.35 mg/g ，比7月份分别显著提高了 1654% 、 3051% ，而9月份比8月份显著提高了 80% 。

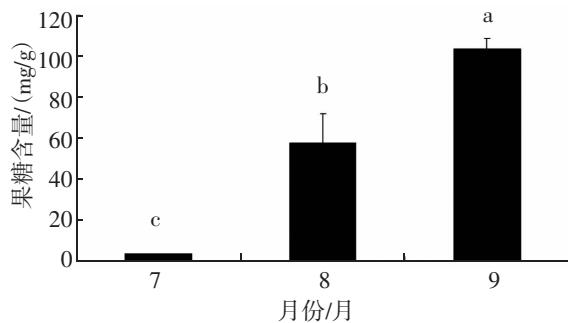


图3 赤霞珠果实发育过程中果糖的含量

综上所述，随着果实的生长，葡萄糖、果糖及蔗糖都呈显著的增长态势。蔗糖、葡萄糖、果糖含量在果实处于发育初期阶段的7月份，含量较低，8月份蔗糖显著积累，9月份成熟后达到高峰。葡萄糖，果糖的含量

在果实生长前期无较大差异，转熟时前者稍低后者，成熟期后者则显著高出前者。3种糖对应的净增长量占据了成熟期糖总量的 $1/2$ 。考虑其中的各个组分，果实生长的全过程以葡萄糖和果糖含量最高，约等于蔗糖、果糖及葡萄糖三者总量的 90% 及以上。

2.2 果实发育过程中转化酶活性的变化

转化酶主要包括酸性转化酶(AI)和中性转化酶(NI)两类。从图4可以看出，不同生长发育阶段，果实中酸性转化酶活性不同。9月份的酸性转化酶活性为 $11.67\text{ }\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$ ，比7月份和8月份显著提高，而8月份与7月份无显著差异。

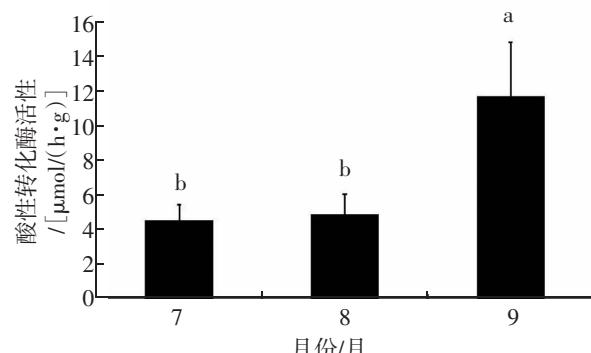


图4 赤霞珠果实发育过程中酸性转化酶活性

从图5可以看出，不同生长发育阶段，果实中中性转化酶活性不同。9月份的中性转化酶活性为 $7.27\text{ }\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$ ，比7月份和8月份分别显著提高了 491% 和 277% ，而8月份与7月份无显著差异。

可见，随着果实的生长，AI和NI均表现为上升趋势，且AI活性高于同期NI的活

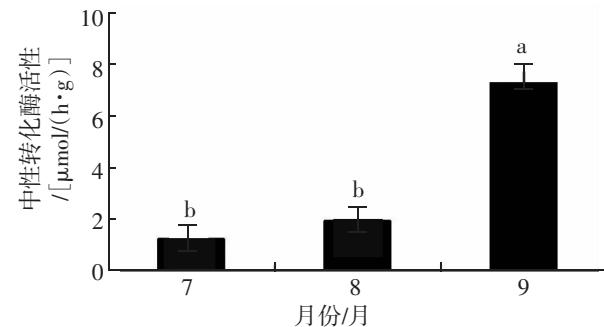


图5 赤霞珠果实发育过程中中性转化酶活性

性。8月份的转化酶活性较高,但果糖和葡萄糖积累量却不是很高,说明该阶段因转化酶催化而生成的己糖多被代谢所消耗。9月份葡萄糖、果糖积累量达最大值,此时己糖主要用于积累。从整个发育期来看, AI 活性明显高出 NI。

2.3 果实发育过程中蔗糖合成酶活性的变化

蔗糖合成酶(SS)的特点在于可溶解性,常见于细胞质之中,在蔗糖代谢活动中起着关键性作用。从图 6 可以看出,不同生长发育阶段,果实中蔗糖合成酶活性不同。8月份和9月份的蔗糖合成酶分别为 12.76 、 $13.36 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$,比7月份分别显著提高了 158% 、 170% ,而9月份与8月份无显著差异。8月份为葡萄果实膨大期,该阶段蔗糖的合成多依靠 SS,合成的大量蔗糖并没有被积累下来,而是在转化酶的作用下迅速分解形成己糖(葡萄糖和果糖),成熟期时己糖含量达最大值。

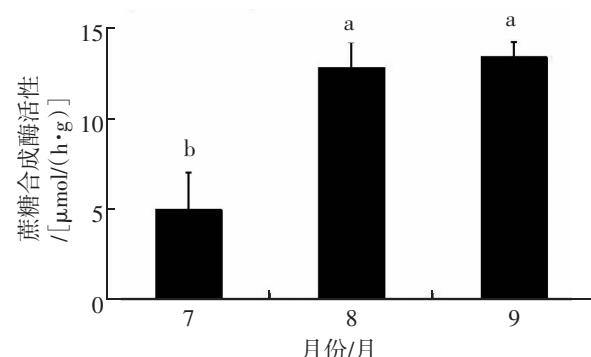


图 6 赤霞珠果实发育过程中蔗糖合成酶活性

2.4 赤霞珠果实发育过程中蔗糖磷酸合成酶活性的变化

蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 作为可溶性酶,在糖的形成及积累期具有积极影响。从图 7 可以看出,不同生长发育阶段,赤霞珠果实中蔗糖磷酸合成酶活力不同。9月份的蔗糖磷酸合成酶活力为 $12.34 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$,比7月份和8月份分别显著提高了 168% 、 86% ,而8月份与7月份无显著差异。SPS 的活力

变化趋势表现为上升,随着果实的生长发育,在 SPS 的作用下果实积累了一定的蔗糖,但蔗糖积累量较低,此反应又是不可逆反应,因此可以推断赤霞珠果实在生长发育积累蔗糖的过程中 SPS 对蔗糖的积累起关键作用,其催化作用机理还有待进一步研究。8月份 SS 活力远远大于 SPS 活力。

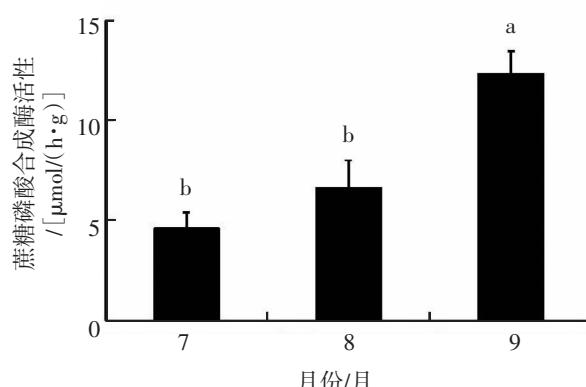


图 7 赤霞珠果实发育过程中蔗糖磷酸合成酶活性

2.5 果实可溶性糖积累与蔗糖代谢相关酶活性的相关性分析

由表 1 可见,在果实发育过程中,葡萄糖的积累在发育前期和发育后期与糖代谢相关酶的相关性不显著。纵观整个发育阶段,葡萄糖积累与 AI 活性存在显著正相关, $R=0.798$;与 NI、SPS、SS 的活性表现出极显著正相关,对应的 R 值分别为 0.909 、 0.869 、 0.827 。

果糖积累在发育前期和发育后期均与其代谢相关酶的相关性不显著。从整个发育期来看,果糖积累与 AI 活性存在显著正相关, $R=0.726$;与 NI、SPS、SS 的活性表现出极显著正相关,对应的 R 值分别为 0.910 、 0.830 、 0.866 。

蔗糖积累在发育前期与糖代谢相关酶的相关性不显著。发育后期与 AI 活性表现出显著的负相关, $R=-0.997$ 。纵观整个发育期,蔗糖积累与 AI 活性表现出显著正相关, $R=0.719$;与 NI、SPS、SS 活性表现出

表1 赤霞珠葡萄果实糖积累和酶活性的相关性分析^①

可溶性糖	酶	相关系数		
		发育前期	发育后期	整个发育期
葡萄糖	酸性转化酶(AI)	-0.500	0.670	0.789*
	中性转化酶(NI)	0	0.493	0.909**
	蔗糖磷酸合成酶(PS)	-0.629	0.523	0.869**
	蔗糖合成酶(SS)	-0.100	-0.100	0.827**
果糖	酸性转化酶(AI)	-0.500	-0.882	0.726*
	中性转化酶(NI)	0	-0.963	0.910**
	蔗糖磷酸合成酶(PS)	-0.629	-0.954	0.830**
	蔗糖合成酶(SS)	0.786	0.990	0.866**
蔗糖	酸性转化酶(AI)	0.500	-0.997*	0.719*
	中性转化酶(NI)	0	-0.958	0.860**
	蔗糖磷酸合成酶(PS)	0.629	-0.967	0.825**
	蔗糖合成酶(SS)	-0.786	0.761	0.919**

①* 表示相关性达 0.05 显著；** 表示相关性达 0.01 极显著。

极显著正相关， R 值分别为 0.860、0.825、0.919。

3 结论与讨论

研究结果表明，随着赤霞珠葡萄果实的生长，蔗糖、葡萄糖、果糖含量显著上升。不同生长发育阶段赤霞珠果实中酸性转化酶活性、中性转化酶活性、蔗糖合成酶活性、蔗糖磷酸合成酶活性不同。相关性分析表明，整个发育期的葡萄糖、果糖、蔗糖与酸性转化酶存在显著正相关，相关系数分别为 0.789、0.726、0.719；葡萄糖、果糖、蔗糖与中性转化酶活性、蔗糖磷酸合成酶、蔗糖合成酶活性均表现为极显著正相关。由此可以认为葡萄糖及果糖二者的积累在一定程度上需要依赖转化酶的调控作用。赤霞珠果实糖代谢与蔗糖积累存在较大关联，蔗糖的积累与蔗糖合成酶活性存在明显的正向关系，相关系数为 0.919。果实生长后期蔗糖积累与酸性转化酶活性之间表现为显著的负相关，且这一阶段蔗糖积累和转化酶活性均呈上升趋势，可认为蔗糖积累过程中受蔗糖合成酶影响较大。

转化酶属于一种因蔗糖生成的分解酶，葡萄浆果在其转熟期，蔗糖主要源于叶片运

输，在紫外照射环境下受细胞壁酸性转化酶的作用可被可溶性酸性转化酶分解，即生成了果糖、葡萄糖^[19]。在葡萄转熟前的一段时期，液泡转化酶生成的己糖多被用作代谢，待完成了转熟后，便多被用作积累^[20]。因此，在催化蔗糖分解成己糖的阶段中前者的作用较大。在诸多蔗糖积累型果实中，包括温州蜜柑与梨^[21-22]，随蔗糖积累量的不断增多可溶性酸性转化酶活性趋于零。蔗糖合成酶催化的化学公式为：蔗糖 + UDP \leftrightarrow 果糖 + UDPG，因蔗糖合成酶具备分解、合成蔗糖的双重作用，将其用于蔗糖代谢的调控具有一定的意义。从整体上看，蔗糖合成酶的活性高于同期蔗糖磷酸合成酶活性。之所以会出现这一情况，一般是因蔗糖磷酸合成酶活性的生存环境所导致的，其多存在含叶绿素的组织之中，特别是在部分蔗糖组织中表现的更加活跃^[23]。

果实中的糖分、有机酸，包括多酚、花青素等是衡量葡萄本质的基本指标，作为其中的基础性因素，糖分在一定程度上决定着葡萄酒的酒度^[24]。糖分积累本身就是果实品质形成的关键，蔗糖代谢是前者的重要内容。本文研究表明，在果实发育的各个阶

段, 己糖占总蔗糖、果糖和葡萄糖的93%以上, 即可认为葡萄糖、果糖为果实积累糖分的重要来源, 但蔗糖含量仍然很低, 成熟时仅占总糖含量的6.5%, 说明大部分蔗糖转化为己糖。

参考文献:

- [1] 郑立龙. 离体嫁接地球葡萄试管苗的光合特性日变化[J]. 甘肃农业科技, 2018(11): 84-87.
- [2] 巨智强, 成自勇, 王 栋, 等. 水分胁迫对红地球葡萄生理生长的影响[J]. 甘肃农业科技, 2015(2): 42-45.
- [3] 胡瑞芳, 姜 慧, 李玥莹, 等. 蔗糖代谢相关酶的研究进展[J]. 北方园艺, 2012(1): 167-170.
- [4] TEIXEIRA R T, KNORPP C, GLIMELIUS K. Modified sucrose, starchand ATP levels in two alloplasmic male-sterile lines of *B. napus* [J]. *Exp. Bot.*, 2005, 56(414): 1245-1253
- [5] 王 晨, 房经贵, 王 涛, 等. 果树果实中的糖代谢[J]. 浙江农业学报, 2009, 21(5): 529-534.
- [6] 王振平, 奚 强, 李玉霞. 葡萄果实中糖分研究进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2005(6): 26-30.
- [7] HUBBARD N L, PHARR D M, HUBER S C. Role of sucrose phosphatase synthase in sucrose biosynthesis in ripening bananas and its relationship to the respiratory climacteric [J]. *Plant Physiol.*, 1990, 94: 201-208.
- [8] 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.
- [9] MACRAE, QUICKW P, BENKERC, et al. Carbohydrate metabolism during postharvest ripening in fruit[J]. *Plant*, 1992, 188: 314-323.
- [10] 王利芬, 夏仁学, 周开兵, 等. 纽荷尔脐橙果肉糖分积累和蔗糖代谢相关酶活性的变化[J]. 果树学报, 2004, 21(3): 220-223.
- [11] 王永章, 张大鹏. 乙烯对成熟期新红星苹果果实碳水化合物代谢的调控[J]. 园艺学报, 2000, 27(6): 391-395.
- [12] 郑国琦, 罗 霄, 郑紫燕, 等. 宁夏枸杞果实遮光处理对果实糖积累和相关酶活性影响[J]. 西北植物学报, 2008, 28(6): 1172-1178.
- [13] 郭祥东. 嘉峪关市酿酒葡萄引种试验结果[J]. 甘肃农业科技, 2008(12): 23-25.
- [14] 蔡武城, 袁厚积. 生物质常用化学分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1982.
- [15] NIELSEN T H, SKIARBEK H C, KARLSEN P. Carbohydrate metabolism during fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum*) plants[J]. *Plant Physiol.*, 1991, 82(2): 311-319.
- [16] DOUGLAS C D, TSUNG M K, FREDERICK C F. Enzymes of sucrose and hexose metabolism in developing kernels of two inbreds of maize[J]. *Plant Physiol.*, 1988, 86: 1013-1019.
- [17] TSAI M, OUL, SETTER T L. Effect of increased temperature in apical regions of maize ears on starch synthesis enzymes and accumulation of sugars and starch[J]. *Plant Physiol.*, 1985, 79(3): 852-855.
- [18] WARDLAW I F, WILLENBRINK J. Carbohydrate storage and mobilisation by the culm of wheat between heading and grain maturity: the relation to sucrose synthase and sucrose-phosphate synthase[J]. *Plant Physiol.*, 1994, 105(3): 251-271.
- [19] DAVIES C, ROBIMSON S P. Sugar accumulation in grape berries[J]. *Plant Physiol.*, 1996(111): 275-283.
- [20] HMANOK, YONEMORIK, SUGIURA. Involvement of sugar metabolism in persimmon growth inhibition by calyx lobe removal[J]. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1996, 121(3): 466-472.
- [21] 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): 112-127.

红笋叶与玉米秸秆混贮工艺条件优化

魏万爱¹, 保青泰², 吴海鸿³, 张长龙⁴

(1. 兰州现代职业学院农林科技学院, 甘肃 兰州 730200; 2. 兰州市农业科技研究推广中心, 甘肃 兰州 730000; 3. 兰州农业信息中心, 甘肃 兰州 730000; 4. 永登春生种植养殖农民专业合作社, 甘肃 兰州 730200)

摘要:采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计, 研究红笋叶与玉米秸秆混合配比、乳酸菌剂添加量和纤维素酶添加量等3个因素对青贮饲料感官性状及发酵品质的影响。结果表明, 红笋叶与玉米秸秆混合配比、乳酸菌剂添加量及纤维素酶添加量均对结果影响显著, 影响顺序由大到小依次为物料配比、纤维素酶添加量、乳酸菌剂添加量。经综合评价, 红笋叶与玉米秸秆混贮的最优工艺条件为红笋叶与玉米秸秆以质量比6:4配合、乳酸菌剂添加量为20 mg/kg、纤维素酶添加量为1 mg/kg。

关键词:红笋叶; 玉米秸秆; 混贮; 正交试验

中图分类号:S816.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-1463(2021)06-0048-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2021.06.012

Process Conditions Optimization for Mixed Ensilage of Red Shoot Leaf and Corn Stalk

WEI Wanai¹, BAO Qingtai², WU Haihong³, ZHANG Changlong⁴

(1. Academy of Agricultural and Forestry, Lanzhou Modern Vocational College, Lanzhou Gansu 730200, China;
2. Lanzhou Agricultural Science and Technology Research Extension Center, Lanzhou Gansu 730000, China;
3. Lanzhou Agricultural Information Center, Lanzhou Gansu 730000, China; 4. Chunsheng Farmers Professional Cooperative of Yongdeng, Lanzhou Gansu 730020, China)

Abstract: This experiment adopted $L_9(3^4)$ orthogonal design, the effects of the mixed ratio of red bamboo shoot leaves and corn stalk, the addition amount of lactic acid bacteria and cellulase on the sensory properties and fermentation quality of silage were studied. The results showed that the mixing ratio of red shoot leaves, corn stalk and the addition amount of lactic acid bacteria and the addition amount of cellulase had significant effects on the results, the influence order is: material ratio, cellulase dosage, lactic acid bacteria dosage. According to the

收稿日期: 2021-04-15

基金项目: 兰州市人才创新创业项目(2020-RC-145)。

作者简介: 魏万爱(1972—), 女, 甘肃兰州人, 农艺师, 主要从事生态环境工程与管理专业。
Email: 380937946@qq.com。

通信作者: 保青泰(1984—), 男, 甘肃兰州人, 主要从事农业技术研究与推广。Email: 714784214@qq.com.

-
- [22] MORIGUCHI T, ABEK, SANADA TETAL. Levels and role of sucrose synthase accumulation in fruit of Asian pear[J]. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 1992, 117: 274-278.
- [23] 王永章, 张大鹏. 红富士苹果果实蔗糖代谢与酸性转化酶和蔗糖合酶的关系的研究[J]. 园艺学报, 2001, 28(3): 259-261.
- [24] OLLTAN, DAKOU -VERDINP, CARDEIP. Grape berry development: are view[J]. J.Int. Sci.Vigne. Vin., 2002, 36(3): 101-131.

(本文责编: 杨杰)