黑龙江农业科学 2018(7):8-11
Heilongjiang Agricultural Sciences
http://www.haasep.cn
DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2018.07.0008

冬枣和骏枣果实发育过程中糖组分及代谢酶活性变化的研究

林思思[1],蒲小秋[1],费光雪[1],吴翠云[1,2]
(1.塔里木大学 植物科学学院,新疆 阿拉尔 843300;2.南疆特色果树高效优质栽培与深加工国家地方联合工程实验室,新疆 阿拉尔 843300)

摘要:为深入研究果实糖积累机制,以冬枣、骏枣果实为试验材料,测定并分析枣果实发育过程中糖组分及其含量以及相关代谢酶活性的变化规律。结果表明:冬枣、骏枣果实均为蔗糖积累型,生长发育早期以积累葡萄糖和果糖为主,后期以快速积累蔗糖为主,且蔗糖含量的积累均表现前期缓慢-后期快速增加趋势,而果糖和葡萄糖含量变化趋势不同;骏枣和冬枣坐果初期果实中蔗糖转化酶活性表现为发育前期急剧下降-后期缓降、蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性和蔗糖合成酶(SS)合成方向活性总体升高、SS分解方向活性总体下降的趋势。两个品种果实SS合成方向活性在8月26日前均小于分解方向,但之后则相反。SS分解方向活性则以冬枣始终大于骏枣,SPS活性以骏枣总体大于冬枣;结合骏枣和冬枣果实糖积累与代谢酶活性变化的关系分析,4种酶共同影响枣果实的糖积累,蔗糖积累受SS调控为主,葡萄糖、果糖积累受转化酶调控为主。

关键词:枣;果实发育;糖积累;蔗糖代谢酶;变化规律

枣树为鼠李科(Rhamnaceae)枣属(*Ziziphus jujuba* Mill.)植物,是我国特产果树。糖分是果树果实中的重要组成成分[1]及其生长发育的物质基础,直接影响果实的甜度及风味,果实糖分积累受蔗糖代谢的调控[2]。近些年来的研究表明,糖作为信号分子,与激素、N等信号连成网络,通过复杂的信号转导机制调节基因表达和植物生长发育[3]。果实发育过程中糖组分种类及其积累变化过程受蔗糖代谢酶的调控[4],已有研究表明[5-7],蔗糖代谢相关酶主要有蔗糖磷酸合成酶(SPS)、蔗糖合成酶(SS)、转化酶(Ivr)包括酸性转化酶(AI)、中性转化酶(NI),其在不同植物果实糖积累过程中的调控作用及调控机制不同,相关研究在梨[8]、脐橙[9-10]、杏[11]、温州蜜桔[12]等果树中已有相关报道。高蔗糖品种的日本梨"chojuro"比低蔗糖品种的中国梨(鸭梨)具有更高的SS和SPS活性[8];脐橙果实在果实膨大期SPS活性非常高,有利于果实糖的积累,而在果实膨大后期和成熟期SS(合成方向)活性升高,促进了果实中糖含量增加[9]。对于苹果[13]、河套蜜瓜[14]果实及柠檬汁胞[15]中糖代谢研究结果认为,发育后期各品种蔗糖含量积累与酶净合成活性增加相关[13]。果实发育前期,以蔗糖分解代谢为主,SS和NI是催化蔗糖分解的关键酶,成熟期间,蔗糖代谢转为合成方向为主,SS和SPS在蔗糖积累中起主导作用[14]。柠檬汁胞中糖分的利用在果实成熟前与NI活性有关,在成熟期则与高AI活性有关[15]。关于枣果实积累及代谢酶活性变化的研究文献报道较少。本研究以鲜食品种冬枣和干鲜兼制品种骏枣为试验材料,开展果实发育过程中糖组分及含量积累以及蔗糖代谢相关酶活性变化的研究,阐明枣果实发育过程中糖的积累特性,为深入研究果实糖积累机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为塔里木大学枣种质资源圃5 a树龄的冬枣、骏枣品种,选择生长发育良好,树势、花期基本一致的单株各3株作为样本树。

1.2 方法

分别于坐果后的幼果期-果实膨大期(7月4日,7月24日,8月6日),硬核期(8月17日,8月26日),白熟期(9月8日,9月20日),全红期(10月2日)采集果实样本,采果时从每株树的不同方向选择大小一致的20个果,果样采下后立即放进低温盒中,及时带回实验室,去皮、去核切碎,同时将果实分成两等份,液氮速冻,-80 ℃超低温冰箱中保存,分别用于可溶性糖组分、蔗糖代谢相关酶活性的测定。

收稿日期:2018-02-02
基金项目:国家级大学生创新创业训练计划资助项目(2016 10757005)。
第一作者简介:林思思(1996-),女,在读学士,从事果树种质资源与品种选育研究。E-mail:1078754465@qq.com。
通讯作者:吴翠云(1968-),女,博士,教授,硕导,从事果树种质资源与品种选育研究。E-mail:wcyby@163.com。

1.2.1　糖组分含量的测定　样品制备：称取1.000 g速冻鲜枣样，低温充分研磨后加入10 mL 80%乙醇混匀，80 ℃水浴 30 min，4 000 r·min^{-1}离心 10 min 取上清液，残渣用 80%的乙醇重复提取 2 次，合并滤液，减压蒸除去乙醇，用超纯水定容至 25 mL，过 0.45 μm 微孔滤膜，滤液用于测定枣果实中的可溶性糖。液相色谱条件：色谱柱为 XBridge Amide(4.6 mm×250 mm，5 μm)，流动相为 0.2%TEA 水溶液(A 相)和含 0.2%TEA 的乙腈(B 相)，流速 1.0 mL·min^{-1}，柱温 35 ℃，进样量 1 μL，ELSD 参数：雾化管温度为 40 ℃，漂移管温度为 50 ℃，氮气做载气，流速为 1.6 L·min^{-1}。

1.2.2　蔗糖代谢相关酶活性测定　酶液提取在冰浴条件下进行。先称取 5 g 左右的枣果肉，放入研磨仪中加入液氮快速研磨 2 min，酶液的提取及测定采用蒲小秋等[16]的方法。

酶活力(mg·g^{-1} FW·h^{-1})＝[X×($V1$/$V2$)/(m×t)]

式中，X 表示标准曲线上查得糖含量(mg·mL^{-1})，$V1$ 表示样本提取液总体积(mL)，$V2$ 表示测定时提取酶液体积(mL)，m 表示样本质量，t 表示酶反应时间(h)。

2　结果与分析

2.1　枣果实发育过程中蔗糖、葡萄糖及果糖含量变化

由图 1 可知，同一品种果实中葡萄糖和果糖含量的变化趋势相似，骏枣果实发育初期的葡萄糖和果糖含量总体呈现平缓下降，8 月 17 日之后葡萄糖和果糖呈快速下降趋势至 9 月 8 日分别达到最低值(葡萄糖 2.16%、果糖 2.24%)，之后葡萄糖和果糖表现快速积累直到果实红熟期时。冬枣果实发育幼果期到膨大期，果糖含量呈快速下降趋势，8 月 6 日之后缓慢增加，8 月下旬之后又表现为快速下降趋势至果实红熟期，其含量为 3.63%。葡萄糖含量在果实发育过程中表现前期缓慢增加，之后快速升高至 8 月中旬达最大值(4.85%)，之后其含量呈现持续下降趋势，至果实红熟期时含量降低到 3.32%。

冬枣和骏枣果实蔗糖含量均呈现在幼果期至白熟期缓慢积累(图 1)，白熟期至全红期其含量表现快速增加的变化趋势。8 月中旬前含量较低且变化不明显，之后蔗糖含量迅速上升。从枣果实整个发育期看，果实发育前期果实内果糖＞葡萄糖＞蔗糖，而果实发育后期果实为蔗糖＞果糖＞葡萄糖，说明枣果实发育早期以葡萄糖和果糖为主，发育后期以积累蔗糖为主。

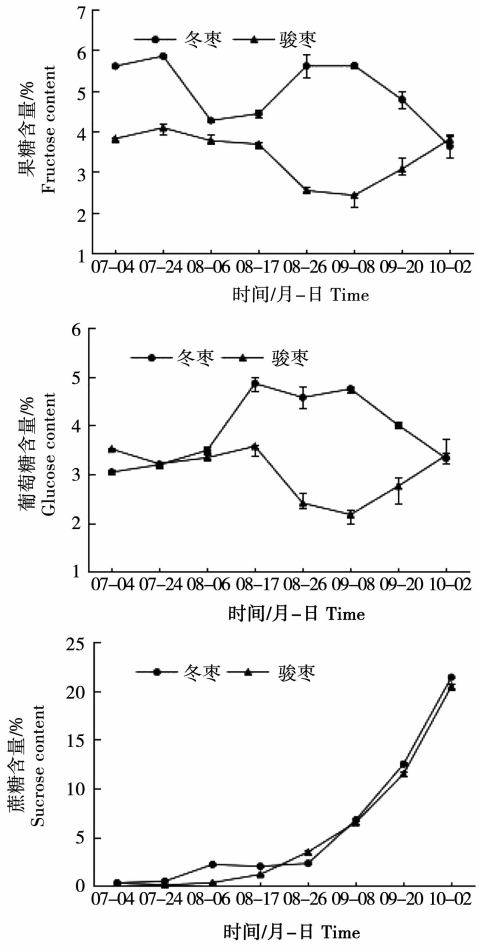

图 1　枣果实发育过程中蔗糖、葡萄糖、果糖含量变化

Fig. 1　The content changes of sucrose, glucose and fructose during the maturing development of jujube fruit

2.2　枣果实发育过程中蔗糖代谢相关酶活性动态变化

2.2.1　枣果实发育过程中蔗糖磷酸合成酶的活性动态变化　由图 2 可知，骏枣和冬枣果实中 SPS 活性变化在硬核期前随着果实的生长发育表现上升趋势，但冬枣果实全发育期(除红熟期外) SPS 活性增长缓慢且活性水平较低(平均 1.83 mg·g^{-1}FW·h^{-1})，只在果实发育进入红熟期时其活性急速升高达最大值(6.52 mg·g^{-1}FW·h^{-1})，而骏枣果实 SPS 活性增长幅度较大且活性高于冬枣，且在 9 月 8 日达到最高值 6.18 mg·g^{-1}FW·h^{-1}，之后其活性开始下降，至红熟期时其含量低于冬枣 SPS 活性。

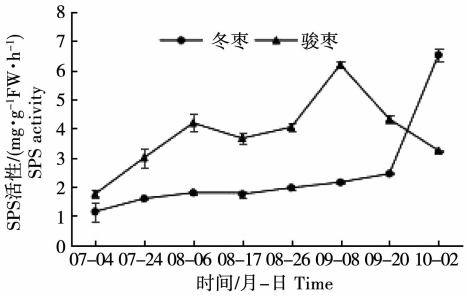

图 2　枣果实发育过程中蔗糖磷酸合成酶活性动态变化

Fig. 2　The dynamic changes of sucrose phosphate synthase activity during the development of jujube fruit

2.2.2　枣果实发育过程中转化酶的活性动态变化　由图 3A 可知，骏枣和冬枣果实发育过程中酸性转化酶（AI）活性变化趋势相同，均表现为果实发育前期 AI 活性迅速下降，分别由 42.64 和 36.55 mg·g^{-1}FW·h^{-1} 下降至 7.46 和 4.02 mg·g^{-1}FW·h^{-1}，8 月 6 日之后至果实红熟期，AI 活性表现持续缓慢降低至最低水平，但骏枣果实发育前期 AI 活性高于冬枣，后期低于冬枣。

图 3B 可知，中性转化酶（NI）活性在整个果实发育过程中均不高，在果实发育前期都呈下降趋势，发育后期都有略微增加。骏枣和冬枣 NI 活性迅速下降，分别由 7.24 和 5.3 mg·g^{-1}FW·h^{-1} 降至 2.56 和 1.94 mg·g^{-1}FW·h^{-1}，骏枣 NI 活性在 8 月 26 日之前大于冬枣；冬枣 NI 活性除在8 月下旬至 9 月初呈现短暂增加（达到 6.12 mg·g^{-1}FW·h^{-1}）外，在果实其它发育期均表现降低的变化趋势，至果实红熟期时 3.03 mg·g^{-1}FW·h^{-1}。

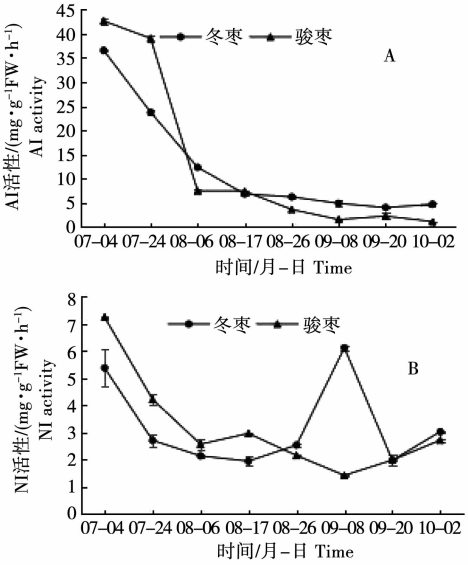

图 3　枣果实发育过程中转化酶的活性动态变化

Fig. 3　Changes of invertase activity during fruit development

2.2.3　枣果实发育过程中蔗糖合成酶的活性动态变化　由图 4 可见，冬枣和骏枣 SS 合成活性变化趋势相同，随着果实的生长发育呈上升趋势。8 月26 日前 SS 合成活性一直以较低水平平缓上升，白熟期之后都出现明显上升趋势（分别达7.27 和5.78 mg·g^{-1}FW·h^{-1}）。

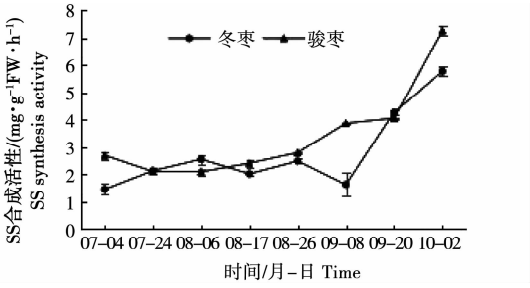

图 4　枣果实发育过程中 SS 合成活性的动态变化

Fig. 4　Dynamic changes of SS synthesis activity during fruit development of jujube

由图 5 可知，骏枣和冬枣 SS 分解活性变化随着果实的生长过程总体呈下降趋势，7 月 4 日到 7 月 24 日迅速下降，白熟期略微升高。骏枣在 8 月中上旬略有上升到下旬持续下降到 9 月 20 日达最低值 0.94 mg·g^{-1}FW·h^{-1}，冬枣果实中 SS 分解活性在 8 月 26 日之后持续上升到 4.30 mg·g^{-1}FW·h^{-1}。白熟期 SS 分解活性小于 SS 合成活性，整个发育过程中骏枣果实 SS 分解活性均低于冬枣。

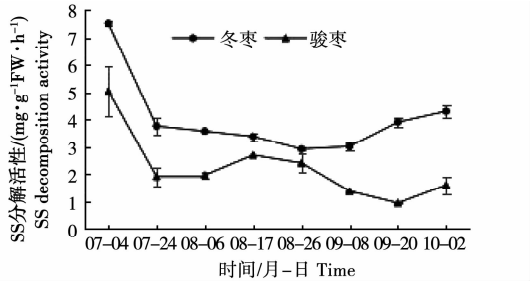

图 5　枣果实发育过程中 SS 分解活性的动态变化

Fig. 5　Dynamic changes of SS decomposition activity during fruit development of jujube

3　结论与讨论

在果实发育过程中，糖分的构成比例与蔗糖代谢相关酶的活性密切相关，果实在不同发育阶段，参与糖代谢的酶种类和活性也不相同，它们协同作用共同影响果实糖分的积累，最终形成特定的果实品质。本研究利用 HPLC 法对骏枣和冬枣果实鲜枣中可溶性糖进行检测，发现从枣果实整个发育期看，枣果实发育前期，果实内果糖＞葡萄糖＞蔗糖，而果实发育后期糖含量表现为蔗糖＞果糖＞葡萄糖，说明枣果实发育早期以积累

葡萄糖和果糖为主，发育后期以积累蔗糖为主，说明冬枣和骏枣果实均是蔗糖积累型果实，而且冬枣果实中蔗糖、葡萄糖和果糖含量普遍高于骏枣，也说明，枣果实糖积累特征受品种差异的影响。

骏枣和冬枣坐果初期果实中蔗糖转化酶活性表现为发育前期急剧下降-后期缓降、蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性和蔗糖合成酶(SS)合成方向活性总体升高、SS 分解方向活性总体下降的趋势。两个品种果实 SS 合成方向活性在 8 月 26 日前均小于分解方向，但之后则相反。SS 分解方向活性则以冬枣始终大于骏枣，SPS 活性以骏枣总体大于冬枣；结合骏枣和冬枣果实糖积累与代谢酶活性变化的关系分析，4 种酶共同影响枣果实的糖积累，蔗糖积累受 SS 调控为主，葡萄糖、果糖积累受转化酶调控为主。

参考文献：

[1] 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(5)：529-530.

[2] 章英才，陈亚萍，景红霞，等. ‘灵武长枣’果实糖积累与蔗糖代谢相关酶的关系[J]. 果树学报，2014(2)：250-257.

[3] 陈俊伟，张上隆，张良诚. 果实中糖的运输、代谢与积累及其调控[J]. 植物生理与分子生物学报，2004(1)：1-10.

[4] 罗霄，郑国琦，王俊. 果实糖代谢及其影响因素研究进展[J]. 农业科学研究，2008(2)：69-74.

[5] 郑国琦，罗霄，郑紫燕，等. 宁夏枸杞果实糖积累和蔗糖代谢相关酶活性的关系[J]. 西北植物学报，2008(6)：1172-1178.

[6] 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.

[7] 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，2009，37(29)：14021-14023，14027.

[8] Tanase K，Shiratake K，Mori H，et al. Changes in the phosphorylation state of sucrose synthase during development of Japaness pear fruit[J]. Physiologin Plantarum，2002，114：21-2.

[9] 龚荣高，张光伦，吕秀兰，等. 脐橙果实糖积累与蔗糖代谢相关酶关系的研究[J]. 四川农业大学学报，2004(1)：34-36.

[10] 王利芬，夏仁学，周开兵. 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(3)：220-223.

[11] 陈美霞，赵从凯，陈学森，等. 杏果实发育过程中糖积累与蔗糖代谢相关酶的关系[J]. 果树学报，2009，26(3)：320-324.

[12] 赵智中，张上隆，徐昌杰. 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(2)：112-118.

[13] 宋烨，刘金豹，王孝娣，等. 苹果加工品种的糖积累与蔗糖代谢相关酶活性[J]. 果树学报，2006(1)：1-4.

[14] 张中霞，刘艳，白立华，等. 河套蜜瓜果实发育过程中糖积累与蔗糖代谢相关酶的关系[J]. 西北植物学报，2011，31(1)：123-129.

[15] 刘永忠，李道高. 柑橘果实糖积累与蔗糖代谢酶活性的研究[J]. 园艺学报，2003(4)：457-459.

[16] 蒲小秋. 枣果实糖积累和代谢酶活性变化及其基因表达的研究[D]. 阿拉尔：塔里木大学，2017.

Study on the Changes of Metabolism Enzyme Activity and Sugar Components in Winter Jujube and Jun Jujube During Fruit Development

LIN Si-si[1]，PU Xiao-qiu[1]，FEI Guang-xue[1]，WU Cui-yun[1,2]

(1. College of Plant Science，Tarim University，Alar 843300，China；2. The National and Local Joint Engineering Laboratory of High Efficiency and Superior-Quality Cultivation and Fruit Deep Processing Technology of Characteristic Fruit Trees in South Xinjiang，Alar 843300，China)

Abstract：In order to study the mechanism of fruit sugar accumulation，two processing jujube fruits(winter jujube and Jun jujube) were used to study and analyze the changes of sugar components，sugar contents and enzyme activities involved in related metabolism during fruit development. The results showed that sucrose was accumulated in winter jujube and Jun jujube，during development of the early growth accumulated more fructose and glucose，in the late stage rapid accumulated more sucrose. The accumulations of sucrose contents showed gently decline in early growth and rapidly increase in late stage，but the changes of fructose and glucose contents tendency were different. The early stage of fruit setting of winter jujube fruit and Jun jujube fruit activity of invertase was rapidly decline in the early growth and gently decline in the late stage. The totally activity of sucrose phosphate synthetase(SPS) and sucrose synthetase of synthetic direction(SS-s) was increasing，sucrose synthetase of cleavage direction(SS-c) was declining. The two cultivar of fruit activity of SS-s was less than activity of SS-c in August 26th，but on the contrary in the later. The activity of winter jujube SS-c was greater than Jun jujube，the totally activity of Jun jujube SPS was greater than winter jujube. The analyzing was *via* the accumulations of sugar combined metabolic enzyme activities which of Winter jujube and Jun jujube，four enzyme was common influence the accumulations of fruit sugar. Sucrose accumulated was more impacted SS and fructose and glucose was impacted Invertase.

Keywords：jujube；fruit development；sugar accumulation；sucrose-metabolizing enzyme；change rule