

# KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 对设施油桃果实糖积累及代谢相关酶活性的影响

张新生, 陈 湖, 傅 友

(河北省农林科学院昌黎果树研究所, 河北 昌黎 066600)

**摘要:** 以设施栽培的艳光油桃为试材, 研究了设施栽培条件下, 喷施 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 处理对油桃果实中糖积累和蔗糖代谢相关酶活性的影响。结果表明, 幼果期喷施 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 处理, 果实葡萄糖和果糖含量明显增加, 蔗糖含量没有明显变化, 成熟期三种糖含量与对照均无明显差异; 果实着色前 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 处理显著增加了果实中蔗糖含量, 但对葡萄糖和果糖含量无明显影响。幼果期和着色前喷施 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 均显著提高了果实中蔗糖代谢酶活性。说明 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 处理是通过全面提高果实中蔗糖代谢酶活性, 起到提高库强作用, 从而增加果实含糖量。

**关键词:** KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 温室; 油桃; 果实; 糖积累; 酶

中图分类号: S662.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)增刊-0040-04

## Effect of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> on Sugar Accumulation and Sucrose-metabolizing Related Enzyme Activities in Nectarine Fruits in Greenhouse

ZHANG Xin-sheng, CHEN Hu, FU You

(Changli Institute of Pomology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Changli 066600, China)

**Abstract:** Sugar accumulation and sucrose related enzyme activities of Yanguang (*Prunus Persica* (L) nectarine) fruits in greenhouse. The results showed that in foliar application of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> treatment, activities of fruit sucrose metabolizing enzymes were significantly increased. Foliar application of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> when fruit was young significantly increased glucose and fructose content in young fruits, but had no significantly influence on sucrose content, and until harvest time there were no significantly difference in sugar content. Foliar application of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> before coloring significantly increased fruit sucrose content, but had no significantly influence on glucose and fructose content. The results indicated that foliar application of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> treatment could increase fruit sugar content by increasing activities of sucrose metabolizing enzymes.

**Key words:** KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; Greenhouse; Nectarine; Fruit; Sugar accumulation; Sucrose-metabolizing related enzyme

近年来, 桃、油桃等果树的设施栽培面积和产量增长很快, 但普遍表现出果实含糖量降低、风味变淡的趋势。果实中糖的种类和数量是决定果实质量的关键因素, 同时糖也是果实中其他风味物质合成的基础原料。对油桃<sup>[1]</sup>、苹果<sup>[2]</sup>、柑橘<sup>[3]</sup>等果树的研究表明, 转化酶(Invertase, Iv)、蔗糖合成酶(Sucrose synthase, SS)、蔗糖磷酸合成酶(Sucrose phosphate synthase, SPS)等蔗糖代谢相关酶活性与糖代谢和积累有密切关系。长期以来, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 被用于提高作物品

质。在桃<sup>[4]</sup>、李<sup>[5]</sup>、葡萄<sup>[6]</sup>等果树上叶面喷施 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 均提高了成熟期果实含糖量。但施用 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 在果实糖代谢和积累中的作用报道较少, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 对果实蔗糖代谢相关酶活性影响尚未见报道。本研究以日光温室栽培艳光油桃为试材, 对 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 处理后油桃果实糖积累及蔗糖代谢相关酶活性变化进行了研究, 旨在探索 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 提高油桃果实含糖量的机理, 为提高设施油桃果实品质提供理论依据。

收稿日期: 2007-09-10

作者简介: 张新生(1972-), 男, 天津宁河人, 副研究员, 硕士, 主要从事果树营养生理研究。

通讯作者: 傅友(1962-), 男, 河北抚宁人, 研究员, 主要从事果树栽培及品种选育等研究工作。

# 1 材料和方法

## 1.1 材料

试材为日光温室栽培 5 年生艳光油桃, 温室内果实成熟期 90 d。树体长势健壮, 生长及负载量较为一致。试验地土壤为砂壤土, pH 7.5, 全 N 0.91 g/kg, 有效 P 26.7 mg/kg, 速效 K 56 mg/kg。

## 1.2 试验设计

试验设 3 个处理: 花后 40 d(幼果期) 喷施 1 次 0.3%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (KP1); 花后 70 d(果实着色前) 喷施 1 次 0.3%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (KP2); 喷清水作对照。下午 15:00 进行整株喷施。每处理 4 株, 处理间设保护株和保护行。分别于花后 40, 50, 60, 70, 77, 84 d, 在每株树外围果枝中部取 3~5 个果实, 液氮速冻处理, -40℃冰箱保存。

## 1.2 果实中糖组分的测定

称取果实鲜样 1 g, 加入 4 mL 80% 乙醇研磨匀浆后, 在 80℃水浴 10 min, 然后以 4 000 r/min 离心 10 min, 取 1 mL 上清液沸水浴蒸干, 加入 1 mL 双蒸水, 过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜, 液相色谱测定葡萄糖、果糖、蔗糖含量。重复 3 次。

## 1.3 蔗糖代谢相关酶的提取与测定

1.3.1 酶的提取 酶的提取在 0~4℃条件下进行。IV, SPS 和 SS 的提取参考文献[7]和[8]的方法。按照 Md Shahidul Islam 等[9]的方法用 D27 mm 透析袋脱盐, IV 透析 12 h, SPS 和 SS 透析 24 h, 脱盐后的酶提取液用于酶活性分析。

1.3.2 酶活性的测定 AI 活性测定参考文献[8]的方法, 并改进。在 0.8 mL 反应体系中含 100 mmol/L 柠檬酸-磷酸缓冲液(pH 4.8), 100 mmol/L 蔗糖, 0.2 mL 脱盐后酶液。30℃反应 30 min, 加入 0.8 mL DNS 试剂终止反应, 沸水浴 5 min, 冷却后测定  $A_{520}$  值。对照在反应体系中加入杀死的酶液。NI 活性测定方法与 AI 类似, 只是柠檬酸-磷酸缓冲液的 pH 为 7.2。

SPS 活性测定参照参考文献[7]和 Komatsu 等[10]和文献[8]的方法, 并改进。在 70  $\mu\text{L}$  反应体系中含 50 mmol/L HEPES-NaOH 缓冲液(pH 7.5), 15 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L NaF, 16 mmol/L UDP-Glucose, 4 mmol/L Fru 6-P, 20 mmol/L Glc 6-P, 20  $\mu\text{L}$  脱盐后酶液。30℃反应 30 min, 加入 70  $\mu\text{L}$  5 mol/L NaOH 终止反应, 沸水浴 10 min, 冷却后加入 1 mL 0.14% 的蒽酮, 40℃反应 20 min, 冷却后测定  $A_{620}$  值。对照在反应体系中加入杀死的酶液。

SS 合成方向活性的测定参考文献[8]的方法, 并改进。在 70  $\mu\text{L}$  反应体系中含 50 mmol/L HEPES-NaOH 缓冲液(pH 7.5), 15 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 10 mmol/L 果糖, 10 mmol/L UDP-Glucose, 40  $\mu\text{L}$  脱盐后酶液。30℃反应 30 min, 加入 70  $\mu\text{L}$  5 mol/L NaOH 终止反应, 沸水浴 10 min, 冷却后加入 1 mL 0.14% 的蒽酮, 40℃水浴中反应 20 min, 冷却后, 测定  $A_{620}$  值。对照在反应体系中加入杀死的酶液。

SS 分解方向活性测定参考 Lowell 等[7]的方法。

# 2 结果与分析

## 2.1 喷施 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 对设施桃果实中糖积累的影响

幼果期  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理后, 果实中葡萄糖含量明显增加, 并在花后 60 d 内显著高于对照。着色前  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理使果实中葡萄糖含量在成熟前高于对照, 成熟期则显著低于对照(图 1)。

2 个  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理都使果实中果糖含量在处理后短时间内高于对照, 处理 20 d 后则降至对照水平以下(图 2)。

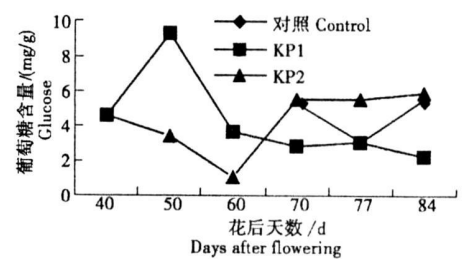


图 1  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃果实中的葡萄糖含量的影响

Fig. 1 The effects of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on glucose content in nectarine peach in greenhouse

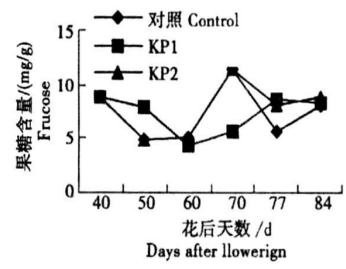


图 2  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃果实中果糖含量的影响

Fig. 2 The effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on fructose content in nectarine fruits in greenhouse

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理与对照果实蔗糖含量变化趋势一致, 花后 60 d 前果实中蔗糖含量很低, 花后 60 d 蔗糖含量明显增加, 上升趋势一直维持到果实成熟。幼果期  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理对幼果中蔗糖含量没有明显影响, 着色前  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理使果实中成熟期蔗糖含量显著增加(图 3)。

综上所述, 幼果期  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理幼果葡萄糖和果糖含量明显增加, 蔗糖含量没有明显变化, 成熟期

三种糖含量与对照均无明显差异;果实着色前  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理显著增加了果实中蔗糖含量,但对葡萄糖和果糖含量无明显影响。

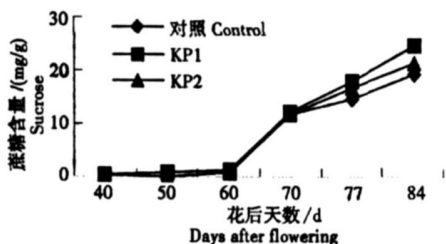


图3  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃果实蔗糖积累的影响

Fig. 3 The effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on sucrose content in nectarine fruits in greenhouse

## 2.2 喷施 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 对设施桃果实蔗糖代谢相关酶活性的影响

幼果期喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  后,果实 AI 活性迅速升高,并且直到果实成熟期一直显著高于对照。果实着色前喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,果实 AI 活性虽较对照有明显升高,但到果实成熟期又降低到对照的水平(图4)。

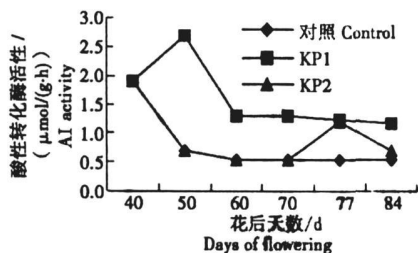


图4  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃果实酸性转化酶活性的影响

Fig. 4 The effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on AI activity in nectarine fruits in greenhouse

幼果期喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  后,果实 NI 活性一直显著高于对照。果实着色前喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,果实 NI 活性较对照有明显升高,并且到果实成熟期一直保持较高水平(图5)。

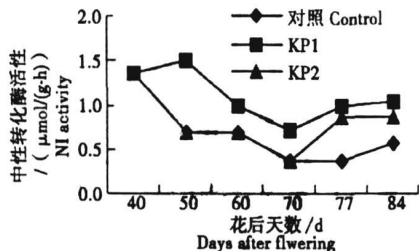


图5  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃果实中性转化酶活性的影响

Fig. 5 The effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on NI activity in nectarine fruits in greenhouse

幼果期喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  后,果实 SS- s 活性一直显著高于对照。果实着色前喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,果实酶活性迅速升高,到果实成熟期明显高于对照和幼果期喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理(图6)。

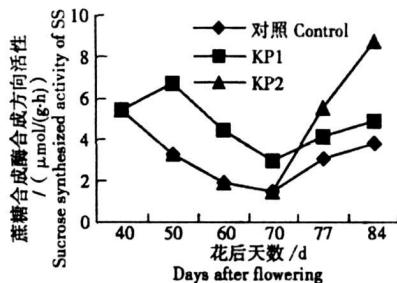


图6  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃蔗糖合成酶合成方向活性的影响

Fig. 6 The effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on sucrose synthesized activity of SS in nectarine fruits in greenhouse

幼果期喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  后,果实 SS- c 活性有所升高,但与对照差异未达显著水平。果实着色前喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,果实酶活性有所升高,但与对照差异也未达显著水平(图7)。

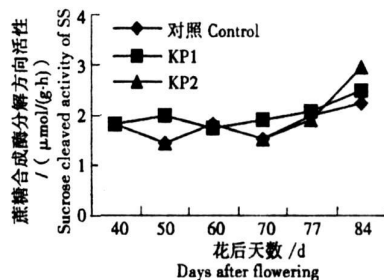


图7  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃蔗糖合成酶分解方向活性的影响

Fig. 7 The effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on sucrose cleaved activity of SS in nectarine fruits in greenhouse

幼果期喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  后,果实 SPS 活性保持了较高水平,与对照相比,差异达显著水平。果实着色前喷施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,果实 SPS 活性较对照有明显升高,并且到果实成熟期一直保持较高水平(图8)。

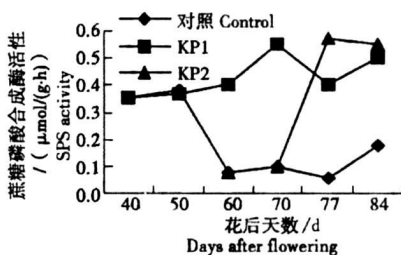


图8  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  对设施油桃果实中蔗糖磷酸合成酶活性的影响

Fig. 8 The effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on SPS activity in nectarine fruits in greenhouse

## 3 讨论

对桃<sup>[11]</sup>、油桃<sup>[1]</sup>果实糖代谢和积累的研究表明,果实发育早期,糖分积累以葡萄糖和果糖为主;果实发育后期,以积累蔗糖为主。本试验中,幼果期  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理幼果葡萄糖和果糖含量明显增加,蔗糖含量没有明显变化,成熟期三种糖含量与对照均无

明显差异; 果实着色前  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理显著增加了果实中蔗糖含量, 但对葡萄糖和果糖含量无明显影响。说明  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理未改变果实不同发育阶段糖组分比例, 而是增加了该阶段主要糖分的含量。

对西瓜<sup>[12, 13]</sup>、草莓<sup>[14]</sup>、番茄<sup>[15, 16]</sup>等的研究发现, 果实糖积累特性及代谢关键酶种类在品种间存在较大差异。Moriguchi 等<sup>[17]</sup>研究表明, 在桃果实中 SPS 活性很低, 调节蔗糖在桃果实中积累的酶主要是 SS。但郭雪峰等<sup>[11]</sup>的研究未发现桃果实蔗糖含量与 SS 活性的显著性相关关系。因此, 是否存在桃果实代谢关键酶还不能确定。本试验表明, 幼果期和着色前喷施均显著提高了果实中 AI、NI、SS 和 SPS 等蔗糖代谢酶活性。说明  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理不是通过提高某一蔗糖代谢关键酶活性, 从而对果实糖积累和代谢产生影响, 而是通过全面提高果实中蔗糖代谢酶活性, 起到提高库强的作用, 进而增加果实含糖量。着色前  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  处理提高成熟期果实糖含量的作用好于幼果期。

#### 参考文献:

- [1] 赵永红, 李宪利, 高东升. 设施油桃果实的糖积累与相关酶活性[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 118–120.
- [2] 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.
- [3] Komatsu A, Takanokura Y, Moriguchi T, *et al.* Differential expression of three sucrose phosphate synthase isoforms during accumulation in citrus fruit (*Citrus unshiu* Marc.) [J]. Plant Science, 1999, 140: 169–178.
- [4] 张纪英, 胡瑞兰, 孙利平. 施肥对温室桃品质的影响[J]. 河北果树, 2005, 5: 41–42.
- [5] 黄 鹏. 提高大石早生李着果率和果实品质试验[J]. 中国南方果树, 2004, 1: 54–55.
- [6] 高金付, 孙会兵, 赵志昆, 等. 赤霉素、硼砂、磷酸二氢钾对葡萄果实发育及品质影响[J]. 北方园艺, 2001, 1: 24–25.
- [7] Cacace A L, Patricia T T, Karen E K. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissues and adjacent sink structures in developing citrus fruit[J]. Plant Physiology, 1989 (90): 1394–1402.
- [8] Natalie L H, Steven C H, Pharr D M. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits[J]. Plant Physiology, 1989 (91): 1527–1534.
- [9] Md Shahidul Islam, Toshiyuki Matsui, Yuichi Yoshida. Carbohydrate content and the activities of sucrose synthase, sucrose phosphate synthase and acid invertase in different tomato cultivars during fruit development [J]. Scientia Horticulturae, 1996(65): 125–136.
- [10] Akira Komatsu, Yuko Takanokura, Takaya Moriguchi, *et al.* Differential expression of three sucrose-phosphate synthase isoforms during sucrose accumulation in citrus fruits (*Citrus unshiu* Marc.) [J]. Plant Science, 1999 (140): 169–178.
- [11] 郭雪峰, 李绍华, 刘国杰, 等. 桃果实和叶片中糖分的季节变化及其与碳代谢酶活性的关系研究[J]. 果树学报, 2004, 21(3): 196–200.
- [12] Arthur A S, Burger Y, Zhang G, *et al.* Biochemistry of sugar accumulation in melons as related to the genetic improvement of fruit quality[J]. Acta Horticulturae, 2000, 510: 89–94.
- [13] Stepansky A, Kovalski I, Schaffer A A, *et al.* Variation in sugar levels and invertase activity in mature fruit representing a broad spectrum of *Cucumis melon* genotypes[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 1999, 46(1): 53–62.
- [14] Hamano M, Yamato Y, Yamazaki H, *et al.* Change in sugar contents and composition of strawberry fruit during development[J]. Acta Horticulturae, 2002, 567: 130–135.
- [15] Islam M S, Khan S. Seasonal fluctuations of carbohydrate accumulation and metabolism of three tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars grown at seven sowing times[J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2001, 76(6): 764–770.
- [16] Husain S, Ntchobo H, Nguyen Quoc B, *et al.* Changes in activities of acid invertase isoforms affect sugar accumulation and composition during ripening of tomato fruit[J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2003, 78(2): 182–192.
- [17] Moriguchi T, Sanata T, Yamaki S. Seasonal fluctuations of some enzymes related to sucrose and sorbitol metabolism in peach fruit[J]. Journal of American Society of Horticultural Science, 1990, 115: 278–281.