

猕猴桃果实发育过程中 AsA 代谢产物积累及相关酶活性的变化

侯长明, 李明军, 马锋旺*, 梁东, 杜国荣

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 以美味猕猴桃品种‘秦美’果实为材料, 研究了其生长发育过程中与 AsA 代谢循环系统相关的物质抗坏血酸 (AsA)、谷胱甘肽 (GSH)、草酸 (OA)、酒石酸 (TA) 和过氧化氢 (H_2O_2) 的含量及相关酶活性的变化及其相互关系。结果表明: 在果实生长发育过程中, 花后 AsA 含量明显增加, 花后 30 d 达到最高后开始下降, 花后 75 d 后基本保持不变。就整个果实中总的 AsA 积累量而言, 花后开始显著增加, 到 45 d 达到最大值后至成熟基本保持不变。这表明猕猴桃果实的 AsA 积累主要发生在幼果期。GSH 随着果实发育在花后 120 d 前其含量及积累量均有增加, 但积累也主要发生在幼果期。OA 含量的变化与 H_2O_2 含量和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性相似, 均在花后开始显著下降, 到花后 30 d 后变化不大; 而 TA 含量的变化趋势与 AsA 一致。抗坏血酸氧化酶 (AO)、单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR) 和脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 的活性变化基本一致, 均在花后开始显著升高, 60 d 达到最大后迅速下降, 在 90 d 后至成熟基本保持不变。

关键词: 猕猴桃; 果实; 抗坏血酸; 代谢物; 酶活性

中图分类号: S 663.4; Q 945 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 09-1269-08

Changes of Product Accumulation and Related Enzyme Activities in AsA Metabolism During Kiwifruit Growth and Development

HOU Chang-ming, LI Ming-jun, MA Feng-wang*, LIANG Dong, and DU Guo-rong

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In present study, the components including the contents of ascorbic acid (AsA), glutathione (GSH), oxalic acid (OA), tartaric acid (TA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) and some enzymes activities related with AsA metabolism, were investigated during the growth and development of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* ‘Qinmei’). The results showed that AsA content per gram of fresh fruit increased significantly and reached the maximum at the 30th day after anthesis (DAA), then decreased and maintained essentially constant after the 75th DAA. The ascorbic acid content per fruit increased significantly and reached the maximum at the 45th DAA, and then maintained essentially no change to ripe period. It shows that the AsA is mainly accumulated during the fruit cell division stage. Glutathione was accumulated continuously before the 120th DAA, and the accumulation speed was the fastest in young fruit period. As possible products of AsA degradation, OA showed a similar changes with H_2O_2 content and ascorbate peroxidase (APX) activity during kiwifruit development, which was decreased fast in the fruit early fast development period before the 30th DAA and was no clear change to maturation, but changes of TA content were similar pattern with AsA content. The activity of ascorbate oxygenase (AO) which can lead to oxidation of AsA is similar with activities of monodehydroascorbate reductase (MDHAR) and dehydroascorbate reductase (DHAR) used to recycling oxidized ascorbate to AsA during the development, which showed a clear increase before the 60th DAA, then decreased fast

收稿日期: 2009 - 03 - 16; 修回日期: 2009 - 07 - 08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30871700); 陕西省自然科学基金项目 (2006C101)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: fwm64@sina.com)

and maintained a low level during the fruit maturation period

Key words: kiwifruit; fruit; ascorbate; metabolites; enzyme activity

抗坏血酸 (ascorbic acid, A_sA) 不仅是维持人体健康的必需物质, 而且对植物本身也具有重要的生理功能。它不仅作为植物抗氧化体系中最重要抗氧化剂参与抵御氧化胁迫, 还在调节细胞的分裂和伸长、调节某些基因转录和翻译、维持细胞氧化还原平衡等方面有特殊的功能 (Davey et al, 2000)。植物缺乏 A_sA 会引起对逆境抗性减弱 (Smimoff, 1993; Jin et al, 2003), 生长受抑 (Smimoff & Pallanca, 1996; Veljovic-Jovanovic et al, 2001)。

植物体内 A_sA 含量受合成和再生能力的调控。A_sA-GSH 循环是 A_sA 再生的主要途径。在该途径中, 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 以 A_sA 为电子供体清除 H₂O₂ 的同时, 将 A_sA 氧化成单脱氢抗坏血酸 (MDHA), MDHA 一部分可在单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR) 的催化下还原为 A_sA, 一部分可通过非酶歧化反应生成 A_sA 和脱氢抗坏血酸 (DHA), 而 DHA 在脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 和谷胱甘肽 (GSH) 参与下可被还原为 A_sA。若 DHA 不能及时的被还原, 进一步会被氧化降解为草酸 (OA) 和酒石酸 (TA) 而被丢失 (Kostman et al, 2001)。

过去对植物 A_sA 代谢及其水平调控的研究多集中在少数模式植物中 (Wheeler et al, 1998), 对果树的研究主要集中在果实 A_sA 含量的测定与比较方面 (Davey et al, 2000), 在作物可食部分 (特别是果实) 中代谢和积累机制的理解仍然有限。

猕猴桃起源于中国, 具有 ‘维生素 C 之王’ 的美称, 但至今对猕猴桃果实 A_sA 的形成和积累规律和机制尚无报道。

本研究中以美味猕猴桃品种 ‘秦美’ 果实为试材, 研究其生长发育过程中 A_sA、GSH、OA 和 TA 含量及代谢相关酶活性的变化, 探索在果实生长发育过程中它们与 A_sA 积累的关系, 为进一步研究猕猴桃果实高 A_sA 机理奠定基础。

1 材料与方法

试验所用果实采自于西北农林科技大学园艺场 (陕西省杨凌) 的 5 年生美味猕猴桃品种 ‘秦美’ (*Actinidia deliciosa* ‘Qinmei’)。

在花期, 选取 5 棵长势基本一致的植株, 进行疏花并人工授粉, 使每棵树的坐果量基本一致 (花后 15 d 疏果)。于 2007 年 5 月 6 日 (此时全园 70% 花瓣脱落) 采中庸结果枝上花瓣刚脱落的幼果, 记该天为果实发育的 0 d, 即花后 0 d, 此后以每 15 d 为一个采样时间段, 但为避免由于天气特别是阴雨环境对果实 A_sA 代谢的影响, 采样时间根据天气情况进行提前和推迟在晴天的 16: 00—17: 00, 直到果实成熟 (花后 150 d)。每次样品采集后, 将采于同一棵树上的果实 (至少 5 个) 进行称重, 求出平均单果质量后, 用刀切碎混合, 再用液氮速冻后作为一个重复存于 -70 °C 冰箱 (共 5 个重复)。全部样品采集完成后进行相关指标的测定。

总抗坏血酸 (T-A_sA)、A_sA、总谷胱甘肽 (T-GSH)、氧化态谷胱甘肽 (GSSG)、和 H₂O₂ 含量及 APX、MDHAR、DHAR 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 酶活性的测定参照马春花等 (2006, 2007) 的报道。DHA 的含量为 T-A_sA 与 A_sA 的差值, GSH 的含量为 T-GSH 与 GSSG 的差值。以 A_sA/DHA 比值和 GSH/GSSG 比值表示 A_sA 和 GSH 的氧化还原状态。

抗坏血酸氧化酶 (AO) 活性的测定参考 Pignocchi 等 (2003)。2.0 g 果实在含 1 mmol · L⁻¹ EDTA、1% Triton X-100 和 2% PVP-40 的冰浴磷酸缓冲液 (50 mmol · L⁻¹, pH 6.5) 中研磨成匀浆, 研磨在冰上进行。匀浆定容至 8 mL, 16 000 ×g, 2 min 离心 15 min; 为了避免提取液中高的 A_sA 含量对测定的影响, 上清液中加入 35% 硫酸氨, 10 000 ×g, 2 min 离心 30 min 沉淀蛋白; 沉淀溶解于 5 mL

磷酸缓冲液 ($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.5) 即为酶液, 如下测定 AO 的活性。3 mL 的反应体系含 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 (pH 5.6), $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ A sA 及 0.10 mL 酶提取液, 以缓冲液代替酶液为对照, 27 ℃ 下测定 265 nm 处吸光值的变化。以每分钟氧化 $1 \mu\text{mol}$ A sA 为 1 个 AO 酶活力单位 (U)。

OA 和 TA 采用高效液相色谱仪测定 (高海燕等, 2004)。色谱条件为: 色谱柱, PRONTOSL 120-10- C_{18} ($10 \mu\text{m}$, $4.6 \text{ mm i.d.} \times 250 \text{ mm}$); 流速 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样体积 $20 \mu\text{L}$; 检测波长 210 nm ; 柱温 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$; 流动相, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ K_2HPO_4 磷酸盐缓冲液 (用磷酸调配, pH 2.55) 和体积分数 3% 甲醇。

DHA、GR、NADH、NADPH、OA (色谱纯) 和 TA (色谱纯) 均购自 Sigma 公司, 酶活性测定采用 SHMADZU 公司 UV-2550 型分光光度计, 高效液相色谱仪为 SHMADZU 公司 LC-2010A 型, 数据统计分析采用 DPS 和 Excel 数据处理系统。

2 结果与分析

2.1 猕猴桃果实发育过程中单果质量的变化

猕猴桃在花后子房开始膨大, 从花后 0 d 到花后 45 d 果实单果质量迅速增加, 生长量达到成熟期果实 (花后 150 d) 单果质量的 68.8%。

花后 45 d 到 105 d 果实单果质量继续增加, 但增加速度明显变慢。

花后 105 d 到 150 d 单果质量基本保持不变 (图 1)。

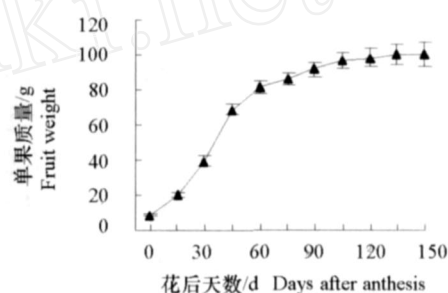


图 1 猕猴桃果实生长发育过程中果实质量的变化

Fig 1 Changes in single fruit weight during kiwifruit development

2.2 猕猴桃果实发育过程中 A sA 水平及其积累量的变化

A sA 含量在果实快速生长期快速提高, 在花后 30 d 达到最大, 是花后 0 d 的 4.73 倍; 至花后 60 d 下降为花后 0 d 的 3.43 倍, 花后 60 ~ 150 d 下降十分缓慢, 仅下降了 15.5% (图 2)。

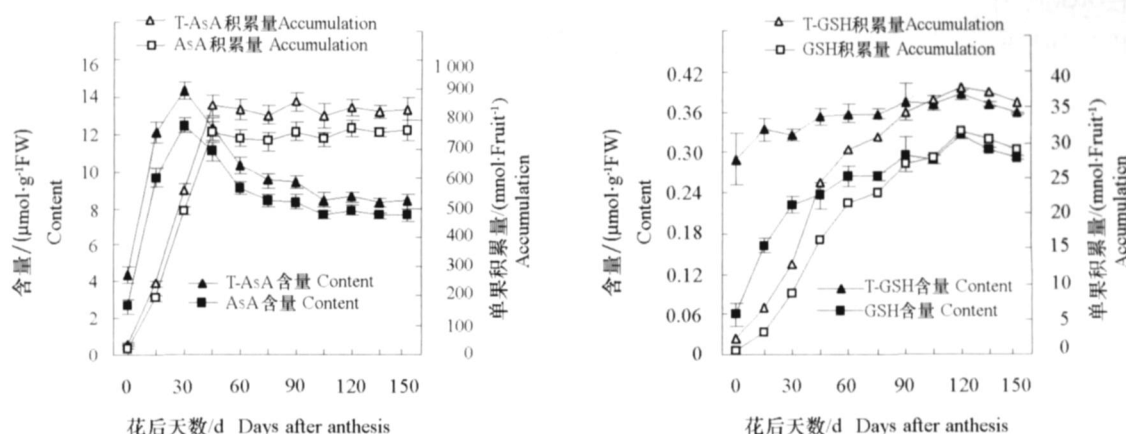


图 2 猕猴桃果实生长发育过程中 T-AsA、AsA、T-GSH 和 GSH 的含量及其单果积累量的变化

单果积累量 = 含量 \times 平均单果质量。

Fig 2 Changes of T-AsA, AsA, T-GSH and GSH contents during kiwifruit growth and development

Accumulation = Content \times Single fruit weight

就整个果实的积累看, A sA 的积累主要在花后 45 d 之前, 花后 45 d 达到花后 0 d 的 34.23 倍。此后 A sA 的形成和降解达到平衡, 积累量基本不变。

在果实快速生长期进行快速积累的同时也伴随着抗坏血酸还原程度的不断提高, 花后 45 d 时 A sA /DHA 比值达到花后 0 d 的 5.68 倍并维持至花后 90 d, 然后升高至花后 120 d 有所升高, 为花后 0 d 的 7.31 倍并维持不变至花后 150 d (图 3)。

在猕猴桃果实中抗坏血酸主要以还原态的 A sA 形式存在, A sA 与 T-A sA 的变化趋势基本一致。

2.3 猕猴桃果实发育过程中 GSH 水平及其积累量的变化

由图 2 可见, 总谷胱甘肽 T-GSH 在整个果实生长发育期含量变化不大, 花后 0 ~ 120 d 增加了 32.8%, 花后 120 d 后有所下降, 至花后 150 d 为花后 0 d 的 1.23 倍。还原态的 GSH 在果实快速生长期迅速增加, 至花后 30 d 达到花后 0 d 的 3.73 倍, 之后增加很慢, 至花后 120 d 达到花后 0 d 的 5.42 倍, 然后在果实停滞生长期中略有下降, 至花后 150 d 为花后 0 d 的 4.87 倍。

就整个果实看, T-GSH 和 GSH 在果实快速生长期迅速积累, 花后 45 d 分别达到花后 0 d 的 9.95 倍和 32.32 倍。缓慢生长期积累缓慢, 到花后 120 d 分别达到花后 0 d 的 15.47 倍和 63.19 倍。停滞生长期都有所下降, 花后 150 d 下降至花后 0 d 的 14.63 倍和 57.86 倍。

整个快速生长期和缓慢生长期 GSH/GSSG 都呈现不断升高的趋势, 花后 120 d 达到最大, 为花后 0 d 的 20.69 倍 (图 3)。

停滞生长期谷胱甘肽还原程度略有降低, 花后 150 d 降为花后 0 d 的 17.18 倍。

2.4 猕猴桃果实发育过程中 AO, APX, MDHAR, DHAR 和 GR 活性的变化

在 AO 或 APX 的作用下 A sA 被氧化为 MDHA 并最终形成 DHA, 同时 MDHA 和 DHA 又可分别在 MDAR 及 DHAR 作用下还原为 A sA 而得以再生。从图 4 可以看出, 猕猴桃在果实快速生长期 AO 的活性不断升高。在花后 60 d 达到最大值, 为花后 0 d 的 2.19 倍, 然后至花后 105 d 下降为花后 0 d 的 60.1%, 花后 105 d 以后活性很低且基本维持不变。猕猴桃幼果 APX 的活性很高, 快速生长期逐渐下降, 花后 45 d 后达到花后 0 d 的 47.1%。

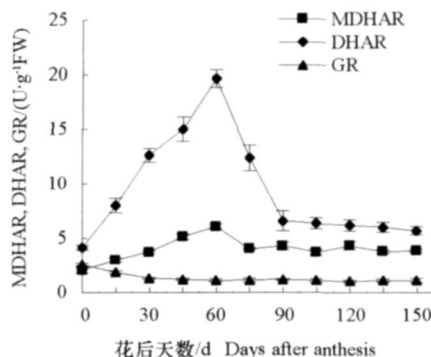
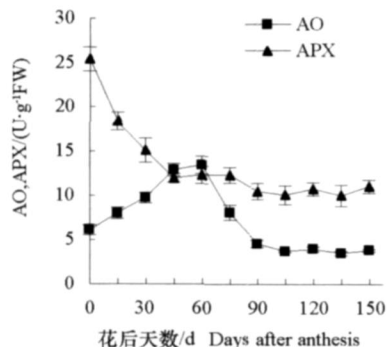


图 4 猕猴桃果实生长发育过程中 AO、APX、MDHAR、DHAR 和 GR 活性的变化

Fig. 4 The activity changes of AO, APX, MDHAR, DHAR and GR during kiwifruit growth and development

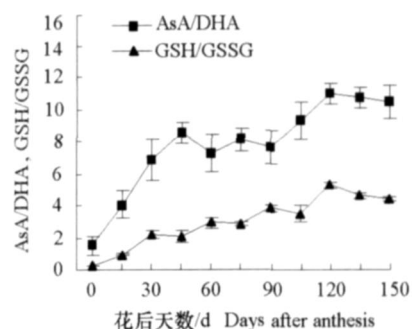


图 3 猕猴桃果实生长发育过程中 A sA /DHA 和 GSH/GSSG 的变化

Fig. 3 Changes of A sA /DHA and GSH/GSSG during kiwifruit growth and development

猕猴桃果实发育过程中 DHAR, MDHAR 的活性变化基本一致 (图 4), 均在花后 60 d 达到最大值, 分别为花后 0 d 的 4.73 倍和 2.97 倍, 至花后 90 d 下降至花后 0 d 的 1.59 倍和 2.11 倍, 花后 90 d 以后变化不大。GR 的活性在果实初始快速生长期迅速下降。至花后 45 d 下降至花后 0 d 的 47.27%, 花后 45 d 以后变化不明显 (图 4)。

2.5 猕猴桃果实发育过程中 H_2O_2 、OA 和 TA 水平及其积累量的变化

猕猴桃幼果的 OA 含量很高, 在果实快速生长期不断下降, 至花后 30 d 时为花后 0 d 的 31.05%, 花后 30 d 后基本没有变化 (图 5)。TA 的变化趋势与 A sA 的变化基本一致, 在果实快速生长期不断升高至 45 d 达到最大, 是花后 0 d 的 1.59 倍, 然后下降至花后 75 d 为花后 0 d 的 1.04 倍, 花后 75 d 以后仍有下降但变化不大 (图 5)。 H_2O_2 在果实的整个生长发育期呈下降的趋势。花后 0 d 到花后 45 d 的下降速率很快, 下降了 77.5%。花后 45 d 以后仍不断下降 (图 5)。从整个果实的含量看, OA、TA 和 H_2O_2 在果实快速生长期都迅速积累, 在果实缓慢生长期 OA 和 TA 基本维持不变, H_2O_2 却明显下降 (图 5)。

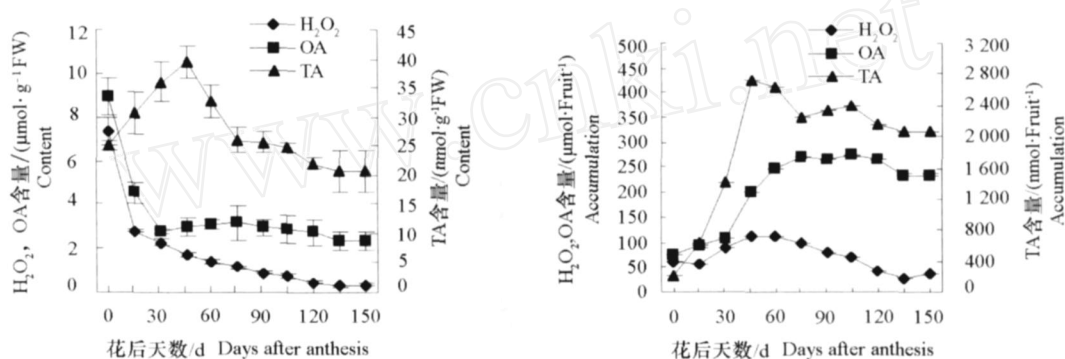


图 5 猕猴桃果实生长发育过程中 OA、TA 和 H_2O_2 含量及其在单果中积累量的变化

Fig. 5 Content changes of OA, TA and H_2O_2 during kiwifruit growth and development

2.6 猕猴桃果实发育过程中 A sA 代谢相关指标间的相关性

H_2O_2 是对植物有毒害作用的一种活性氧, A sA-GSH 循环能在 APX 作用下将其有效清除, 减轻其对植物体的伤害。该过程以 A sA 为电子供体, 将改变 A sA 的氧化还原状态。分析 (表 1) 显示 A sA /DHA

表 1 猕猴桃果实生长发育过程中 A sA-GSH 循环相关指标间的相关系数

Table 1 Relation coefficient among product contents and related enzyme activities of A sA-GSH cycle during kiwifruit growth and development

	ASA	A sA / DHA	T-GSH	GSH	GSH / GSSG	H_2O_2	OA	TA	AO	APX	MDHAR	DHAR	GR
T-A sA	0.979 **	0.110	0.087	0.181	-0.103	-0.342	-0.531	0.753 **	0.584 *	-0.261	0.418	0.607 *	-0.377
ASA		0.305	0.260	0.367	0.084	-0.509	-0.684 *	0.674 *	0.517	-0.445	0.530	0.608 *	-0.554
A sA /DHA			0.876 **	0.942 **	0.923 **	-0.912 **	-0.867 **	-0.319	-0.313	-0.927 **	0.522	0.003	-0.909 **
T-GSH				0.951 **	0.881 **	-0.919 **	-0.819 **	-0.320	-0.310	-0.935 **	0.584 *	0.009	-0.874 **
GSH					0.929 **	-0.966 **	-0.915 **	-0.286	-0.268	-0.978 **	0.623 *	0.089	-0.960 **
GSH /GSSG						-0.838 **	-0.746 **	-0.554	-0.508	-0.851 **	0.422	-0.179	-0.812 **
H_2O_2							0.969 **	0.177	0.179	0.972 **	-0.618 *	-0.156	0.961 **
OA								-0.022	0.022	0.939 **	-0.659 *	-0.292	0.965 **
TA									0.895 **	0.157	0.374	0.755 **	0.047
AO										0.165	0.529	0.918 **	0.028
APX											-0.674 *	-0.176	0.974 **
MDHAR												0.762 **	-0.738 **
DHAR													-0.322

注: *表示显著水平 0.05; **表示显著水平 0.01。

Note: * denote signification at 0.05; ** denote signification at 0.01.

和 GSH/GSSG 与 H_2O_2 存在极显著负相关, 而 GR、APX 和 OA 与 H_2O_2 存在极显著正相关; A SA 和 GSH 的氧化还原状态显示出显著的一致性, A SA/DHA 和 GSH/GSSG 的相关系数为 0.923。GR 与 GSH/GSSG 呈现极显著的负相关; 随 GSH 升高而 GR 降低, 两者极显著负相关, 表现出 GSH 对 GR 的可能的反馈抑制; T-A SA 与 TA 存在显著的正相关, 但与 OA 并无显著相关。

3 讨论

本研究发现, 猕猴桃果实在花后 45 d 之前果实质量迅速增加, 果肉细胞处于快速分裂膨大期 (Hopping, 1976)。这个期间 A SA 含量也迅速增加, 并在花后 30 d 达到最高含量。这可能与 A SA 参与植物细胞的分裂有关 (Smimoff & Pallanca, 1996, Veljovic-Jovanovic et al, 2001)。花后 45 d 后 A SA 水平开始明显下降, 在花后 60 d 下降幅度明显减小, 这可能与这个时期果实细胞的膨大对 A SA 的稀释有关。单个果实中的 A SA 的积累量在花后 45 d 前迅速增加, 之后至果实成熟基本保持不变, 这与黑穗醋栗果实的 A SA 积累特点相一致 (Hancock et al, 2007)。在植物细胞中 A SA 的积累水平主要取决于合成与降解丢失之间的平衡关系 (Ishikawa et al, 2006)。猕猴桃果实发育过程中 A SA 水平的变化特点说明, 在花后 45 d 之前每个果实组织中的 A SA 合成能力大于降解丢失, 之后二者基本保持平衡态。这也暗示着猕猴桃果实中的 A SA 的合成速率调控主要发生在花后 45 d 之前, 或者花后 45 d 后 A SA 降解速率增加, 这为研究猕猴桃果实 A SA 积累的调控奠定了基础。而在刺梨果实生长发育过程中, A SA 的积累速率总体上呈“慢—快—慢”的变化模式 (安华明等, 2005, 2007), 这可能与树种有关。

目前研究表明, 参与细胞分裂和膨大的 AO (Smimoff & Pallanca, 1996) 活性在猕猴桃幼果期逐渐上升, 在果实生长明显减慢的花后 62 d 达到最大, 之后下降, 其活性与 A SA 含量及 A SA/DHA 比值不存在明显相关性, 这表明 AO 对猕猴桃 A SA 积累量的影响不大, 而对果实的膨大可能有一定的作用。APX 利用 A SA 作为电子供体清除活性氧 H_2O_2 (Smimoff & Pallanca, 1996), 二者在花后均迅速下降, 表现出明显的相关性, 并且二者均与表示 A SA 氧化程度的 A SA/DHA 比值表现出显著的负相关。这可能是果实发育初期细胞活动旺盛使得 H_2O_2 积累, 高的 APX 活性有助于防止过量活性氧的积累对细胞的毒害作用。A SA 经 AO、APX 等氧化的产物是 MDHA, MDHA 一部分能经 MDHAR 还原为 A SA, 另一部分能自身发生歧化反应生成 A SA 和 DHA, 生成的 DHA 需要经 GSH 依赖性 DHAR 还原成 A SA (Davey et al, 2000)。MDHAR 和 DHAR 活性在猕猴桃果实生长发育过程中的变化趋势基本与 AO 一致, 在果实快速发育期迅速升高到最大, 果实成熟期很低。如 Davey 和 Keulemans (2004) 报道, 作为 DHAR 电子供体的 GSH 的含量与 DHAR 活性和 A SA 含量未表现出相关性, 这可能是因为 GSH 在植物体内更重要的角色是作为另一种可溶性抗氧化剂和蛋白巯基的供体 (May et al, 1998)。但表示它氧化还原状态的 GSH/GSSG 比值与 A SA/DHA 比值表现出一致性, 在高活性氧和高代谢活性的幼果细胞中 (尤其子房) 有着高的氧化态 GSSG 水平, 催化 GSSG 还原为 GSH 的 GR 活性也表现出与 GSSG 水平相似的变化趋势。这些结果表明参与 A SA 代谢的这些酶及 GSH 水平对猕猴桃果实发育过程中 A SA 积累量并不是起决定作用, 对于 A SA 积累量可能主要取决于合成能力, 合成速率调控的探索应该是以后对 A SA 积累机制研究的主要关注点。

研究表明 A SA 经 DHA 降解能生成 OA 和 TA (Debolt et al, 2007)。在猕猴桃果实发育过程中 AO 与 H_2O_2 含量的变化趋势相一致, 均为花后显著下降, 到 30 d 后基本保持不变, 二者之间的这种相关性可能与 AO 分解也伴随着 H_2O_2 的产生有关 (Green & Fry, 2005)。李宝盛和彭新湘 (2006) 研究表明虽不能排除抗坏血酸可能是植物草酸合成的前体, 但其内源含量高低不一定影响植物中草酸积累, 在猕猴桃生长发育过程中 T-A SA 和 OA 含量间也不存在正相关, 这可能是由于猕猴桃果实中 AO 的积累并非只来自 A SA 降解, 而且 OA 不稳定, 能被草酸氧化酶分解或与 Ca^{2+} 结合形成草酸钙沉淀 (Ko-

stman et al, 2001)。尽管这样, TA 和 A sA 含量间表现出了显著相关性和相似的变化趋势, 这与 A sA 经 C4/C5 的断裂生成 TA 的 TA 积累型葡萄中二者表现出的关系一致 (Debolt et al, 2006)。但猕猴桃果实中的 A sA 降解过程中的碳链断裂方式及其途径目前尚无研究报道, 需进一步研究。多个研究表明, 通过提高氧化态 A sA 的再生能力能降低 A sA 的氧化降解速率, 显著地提高植物中 A sA 的含量 (Chen et al, 2003; Eltayeb et al, 2007)。减少 A sA 的氧化降解是提高植物 A sA 的途径之一, 研究猕猴桃 A sA 的降解特性和途径对于理解猕猴桃果实 A sA 积累机制有着理论与应用价值。

总之, 在猕猴桃果实生长发育过程中, A sA 积累主要发生在幼果期 (花后 0 ~ 45 d), 之后基本保持不变。就整个果实中总的 A sA 积累量而言, A sA 在花后开始显著积累, 到 45 d 达到最大值后至成熟基本保持不变。参与 A sA 代谢的酶 (AO、APX、MDHAR、DHAR 和 GR) 活性及 GSH 水平并不对猕猴桃果实发育过程中 A sA 积累量起决定作用, A sA 可能主要取决与果实自身的合成调控。此外, OA 作为 A sA 经 DHA 降解的可能产物, 其含量与 A sA 含量间不存在相关性, 但 TA 却存在明显的相关性。这些结果提示幼果期 A sA 合成途径及其调控机制是我们以后在猕猴桃高 A sA 积累机制研究中的关键点。

References

- An Huaming, Chen Li-geng, Fan Wei-guo, Liu Qing-lin. 2005. Relationship between ascorbic acid accumulation and related enzyme activities in fruit of *Rosa roxburghii* Tratt. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 31 (4): 431 - 436. (in Chinese)
- 安华明, 陈力耕, 樊卫国, 刘庆林. 2005. 刺梨果实中维生素 C 积累与相关酶活性的关系. *植物生理与分子生物学报*, 31 (4): 431 - 436.
- An Huaming, Fan Wei-guo, Liu Qing-lin, Chen Li-geng. 2007. Co-changes of antioxidant enzymes and ascorbic acids during the fruit and leaf development of *Rosa roxburghii*. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (5): 1293 - 1296. (in Chinese)
- 安华明, 樊卫国, 刘庆林, 陈力耕. 2007. 刺梨果实和叶片发育过程中抗坏血酸和抗氧化酶的协同变化. *园艺学报*, 34 (5): 1293 - 1296.
- Chen Zhong, Young T E, Ling Jun, Chang S C, Gallie D R. 2003. Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (6): 3525 - 3530.
- Davey M W, van Montagu M, Inze D, Sanmartin M, Kanellis A, Smimoff N, Benzie I J J, Strain J J, Flavell D, Fletcher J. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food Agric*, 80: 825 - 860.
- Davey M W, Keulemans J. 2004. Determining the potential to breed for enhanced antioxidant status in Malus: mean inter- and intravarietal fruit vitamin C and glutathione contents at harvest and their evolution during storage. *J Agric Food Chem*, 52: 8031 - 8038.
- Debolt S, Cook D R, Ford C M. 2006. L-Tartaric acid synthesis from vitamin C in higher plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 5608 - 5613.
- Debolt S, Melino V, Ford C M. 2007. Ascorbate as a biosynthetic precursor in plants. *Annals of Botany*, 99: 3 - 8.
- Eltayeb A E, Kawano N, Badawi G H, Kaminaka H, Sanekata T, Morishima I, Shibahara T, Inanaga S, Tanaka K. 2007. Overexpression of monodehydroascorbate reductase in transgenic tobacco confers enhanced tolerance to ozone, salt and polyethylene glycol stresses. *Planta*, 225: 1255 - 1264.
- Gao Hai-yan, Wang Shan-guang, Hu Xiao-song. 2004. Study on determination of kinds and contents of organic acids in pear juice by high performance liquid chromatography. *Food and Fermentation Industries*, 30 (8): 96 - 100. (in Chinese)
- 高海燕, 王善广, 胡小松. 2004. 利用反相高效液相色谱法测定梨汁中有机的种类和含量. *食品与发酵工业*, 30 (8): 96 - 100.
- Green M A, Fry S C. 2005. Vitamin C degradation in plant cells via enzymatic hydrolysis of 4-O-oxalyl-L-threonate. *Nature*, 433: 83 - 87.
- Hancock R D, Walker P G, Pont S D A, Marquis N, Vivera S, Gordon S L, Brennan R M, Viola R. 2007. L-Ascorbic acid accumulation in fruit of *Ribes nigrum* occurs by in situ biosynthesis via the L-galactose pathway. *Functional Plant Biology*, 34: 1 - 12.
- Hopping M E. 1976. Structure and development of fruit and seeds in Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis* Planch.). *New Zealand J Bot*, 14: 63 - 68.
- Ishikawa T, Dowdle J, Smimoff N. 2006. Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants. *Physiol Plant*, 126: 343 - 355.
- Jin Yue-hua, Tao Da-li, Hao Zan-qing, Ye Jie, Du Ying-jun, Liu Hai-ling, Zhou Yong-bin. 2003. Environmental stresses and redox status of a-

- scorbate. *Acta Botanica Sinica*, 45 (7): 795 - 801.
- Kostman T A, Tarlyn N M, Loewus F A, Franceschi V R. 2001. Biosynthesis of L-ascorbic acid and conversion of carbon 1 and 2 of L-ascorbic acid to oxalic acid occurs within individual calcium oxalate crystal idioblasts. *Plant Physiol*, 125: 634 - 640.
- Li Bao-sheng, Peng Xin-xiang. 2006. Relationship between oxalate accumulation and ascorbate content in plant. *Plant Physiology Communications*, 42 (1): 31 - 33. (in Chinese)
- 李宝盛, 彭新湘. 2006. 植物叶片中抗坏血酸含量与草酸积累的关系. *植物生理学通讯*, 42 (1): 31 - 33.
- Ma Chun-hua, Ma Feng-wang, Li Ming-jun, Han Ming-yu, Shu Huai-rui. 2006. Effects of exogenous ascorbic acid on senescence of detached apple leaves. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (6): 1179 - 1184. (in Chinese)
- 马春花, 马锋旺, 李明军, 韩明玉, 束怀瑞. 2006. 外源抗坏血酸对离体苹果叶片衰老的影响. *园艺学报*, 33 (6): 1179 - 1184.
- Ma Chun-hua, Ma Feng-wang, Li Ming-jun, Han Ming-yu, Shu Huai-rui. 2007. Comparisons of ascorbic acid contents and activities of metabolism relative enzymes in apple leaves of various ages. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (4): 995 - 998. (in Chinese)
- 马春花, 马锋旺, 李明军, 韩明玉, 束怀瑞. 2007. 不同叶龄苹果叶片抗坏血酸含量与其代谢相关酶活性的比较. *园艺学报*, 34 (4): 995 - 998.
- May M J, Vemoux T, Leaver C, Montagu M, Inze D. 1998. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development. *J Exp Bot*, 49 (321): 649 - 667.
- Pignocchi C, Fletcher J M, Wilkinson J E, Barnes J D, Foyer C H. 2003. The function of ascorbate oxidase in tobacco. *Plant Physiol*, 132 (3): 1631 - 1641.
- Smimoff N. 1993. The role of active oxygen in the response to water deficit and desiccation. *New Phytol*, 125: 27 - 58.
- Smimoff N, Pallanca J E. 1996. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 24: 472 - 478.
- Veljovic-Jovanovic S D, Pignocchi C, Noctor G, Foyer H C. 2001. Low ascorbic acid in the vtc-1 mutant of *Arabidopsis* is associated with decreased growth and intracellular redistribution of the antioxidant. *Plant Physiol*, 127 (2): 426 - 435.
- Wheeler G L, Jones M A, Smimoff N. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, 393: 365 - 369.

期刊征订

欢迎订阅 《北方果树》

主管单位：辽宁省农业科学院。主办单位：辽宁省果树科学研究所，沈阳农业大学园艺学院，辽宁省果树学会。

主要栏目：专题论述、试验研究、生产经验、调查（考察）报告、科普讲座、生产建议、果业产业化、典型介绍、绿色果品、百果园、工作论坛、国外见闻、来稿摘登、市场信息、报刊摘引与会讯等。技术范围：落叶果树（含经济林）、西甜瓜和草莓等新品种的选育、引进；品种特性与配套栽培技术；土壤管理与肥料科学施用；病虫害发生规律与防治技术；植物生长调节剂及其应用；组织培养与脱毒技术；果品贮藏与加工；产业化经营与集约化栽培；果园机械与果园管理机械化等。读者对象：果树科技人员、农林院校师生、各级果业主管与技术行政部门干部、果树生产和产品经销者等。双月刊，单月 10 日出版，大 16 开本，64 页，彩色四封。每期定价 5.00 元，全年 6 期 30.00 元。邮发代号 8 - 213，全国各地邮局（所）办理订阅，编辑部随时可订，款到发刊，免费邮寄，需挂号邮寄，每册另加 3.00 元，年加 18.00 元。欢迎以乡（镇）、村统一订阅（20 册以上免收挂号费）。

编辑部地址：辽宁省营口市熊岳镇铁东街《北方果树》编辑部；邮编：115009；

联系电话：0417 - 7848206（兼传真），7033159，7032701；电子信箱：lgqbscn@yahoo.com.cn。