

# 甜樱桃芽酚类物质含量及相关酶活性变化与自然休眠的关系

魏海蓉 高东升\* 李宪利

(山东农业大学园艺科学与工程学院, 泰安 271018)

**摘要:** 以 7 年生甜樱桃 ‘红灯’ 和 ‘早红宝石’ 为试材, 研究了酚类物质含量及相关酶活性在自然休眠期间的动态变化, 探讨了温度对酚类物质含量的影响。结果表明, 甜樱桃芽酚类物质在自然休眠期间持续缓慢增加, 随休眠的结束, 含量急剧下降, 不同品种之间有差异, 自然休眠结束后总酚含量降至最低。花芽中的酚类物质含量略高于叶芽, 多酚氧化酶 (PPO)、苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性差别不大; 不同需冷量的品种之间差异明显。芽中 PAL 活性与总酚含量的变化趋势呈正相关。而 PPO 活性在自然休眠期间逐渐升高。低温 (5℃) 促进酚类物质的积累, 中期使其提前达到高峰并进入下降阶段, 后期加速其降低; 高温 (20℃) 效果相反, 变温 (5/20℃) 效果不明显。

**关键词:** 甜樱桃; 芽; 自然休眠; 酚类物质; 酶活性

**中图分类号:** S 662.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 02-0197-05

## The Changes of Phenolics and Related Enzymes Activity in Sweet Cherry Buds during Endo-dormancy Period

Wei Hairong, Gao Dongsheng\*, and Li Xianli

(Institute of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

**Abstract:** The changes of phenolics and related enzymes activity in sweet cherry buds and the effects of temperature on the content of phenolics were investigated during dormancy on 7-year-old sweet cherries (*Prunus avium* L. ‘Hongdeng’ and *P. avium* L. ‘Zaohongbaoshi’) trees. The result showed that the content of phenolics rose steadily in primary stage and dropping quickly in later stage. The time which the content of phenolics dropped was different in different cultivars. The content of phenolics in flower buds was higher than that of vegetative buds. PPO activity and PAL activity of flower buds were similar to that of vegetative buds in the same cultivar, but differentiate notably in different cultivars. The trend of PAL activity was positively related with the trend of the content of total phenolics. PPO activity rose steadily during endo-dormancy period. Low temperature (5℃) promoted the accumulation of the phenolics in primary stage, and made the phenolics content dropped earlier than that of controlled in middle stage, and promoted the drop of phenolics content. The effect of high temperature (20℃) was contrary to that of low temperature (5℃). The effect of variable temperature (5/20℃) was less remarkable.

**Key words:** Sweet cherry; Bud; Endo-dormancy; Phenolics; Enzymes activity

自然休眠是制约果树促成设施栽培的关键因子, 对自然休眠进程的有效调控是目前果树设施栽培中亟待解决的问题。酚类物质广泛存在于果树体内, 并起着重要的生理作用, 它常与某些植物激素相互作用, 也能单独发生作用, 并且影响某些酶的活性<sup>[1]</sup>。酚类物质对小麦种子的休眠有显著的抑制作用, 特别是其中的咖啡酸、P-香豆酸、阿魏酸、芥子酸<sup>[2]</sup>。谷物类种子常由于生长刺激物质和低温打破休眠, 其中起决定作用的是激素 (如赤霉素和脱落酸) 和抑制物质 (如酚类物质)<sup>[3]</sup>。但是酚

收稿日期: 2004-07-13; 修回日期: 2004-09-13

基金项目: 国家 ‘863’ 计划项目 (2001AA247041)

\*通讯作者 Author for correspondence (E-mail: dsqao@sdau.edu.cn)

类物质与落叶果树芽自然休眠关系的研究较少。本试验通过分析甜樱桃芽自然休眠期间酚类物质含量及相关酶活性的变化动态,以及温度对酚类物质含量的影响,探讨酚类物质与自然休眠的关系机制。为生产中人工调控自然休眠进程提供理论依据。

## 1 材料与方法

试验在泰安群星果品示范园进行。试材为 7 年生的甜樱桃品种红灯 (*Pninus avium* L. 'Hongdeng') 和早红宝石 (*P. avium* L. 'Zaohongbaoshi')。树体生长健壮、整齐一致,试验期间正常管理。

2003 年 10 月 20 日至 2004 年 2 月 7 日,每隔 7 d 从生长势较为一致的树体中部分别采集花芽和叶芽,每次采集约 100 个,迅速用冰瓶带回实验室,用蒸馏水洗净,吸水纸擦干,放入液氮中冷冻约 20 min,然后置冰箱 ( - 20 ) 中保存,待测定总酚含量和酶活性。

分别于 10 月 27 日、11 月 25 日、12 月 26 日取红灯樱桃带有短枝花芽的多年生枝条 40 cm 左右,每处理采集 50 个枝条,带回实验室插入盛有清水 (5 cm) 的塑料桶中,放置在 5 、 20 、 5 / 20 变温 3 种光照培养箱中处理,变温处理以 12 h 为 1 个周期,以自然条件下培养的红灯为对照。处理后每隔 5 d 取样 1 次,每次分别采集约 50 个花芽,重复 3 次。测定总酚含量。

从 10 月 15 日开始,从红灯和早红宝石树体上采集生长势均一的,带有花芽和叶芽的 30 ~ 40 个枝条,放入塑料小桶中进行清水培养,每隔 2 d 换 1 次水,将小桶置于光照培养箱中昼夜 (昼 25 / 夜 12 ) 光照 (人工模拟自然条件光强) 催芽,培养 25 d,观察统计萌芽率,当萌芽率超过 50% 时,确定已通过自然休眠。

总酚提取及测定采用 Folin - 酚比色法略加改进, Folin 试剂自制<sup>[4]</sup>。每个样品 3 次重复,每个重复取新鲜芽 0.2 g,蒸馏水熏蒸使多酚氧化酶活性丧失,加 5 mL 丙酮水 (水 丙酮 4 6), 5 mL 10% 三氯乙酸,研磨成浆,转入离心管中, 15 min 超声波震荡 3 次, 8000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液稀释 5 倍。于 50 mL 容量瓶中加入 5 mL 水, 5 mL Folin - 酚试剂, 1 mL 待测液, 10 min 后加入 2 mL 碱液,立即混匀, 50 °C 水浴 15 min, 冷却后,蒸馏水定容, 760 nm 比色,以没食子酸作标准曲线,其浓度范围为 10 ~ 60 μg · mL<sup>-1</sup>。

多酚氧化酶 (PPO) 的提取及活性测定按照文献 [5] 的方法。

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性测定见文献 [6]。

## 2 结果与分析

### 2.1 甜樱桃芽自然休眠进程的界定

从图 1 可知,同一品种内花芽和叶芽的萌芽率差别不大。红灯和早红宝石的花芽、叶芽在 10 月

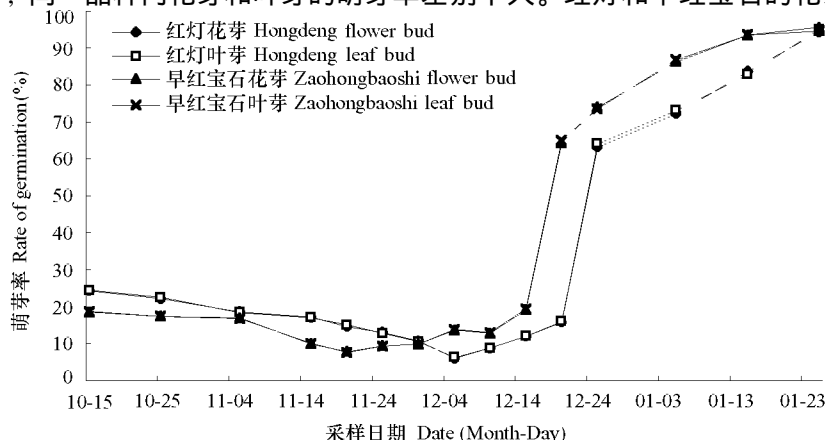


图 1 '红灯'和'早红宝石'不同时期花芽和叶芽的萌芽率

Fig. 1 Rate of flower buds germination of 'Hongdeng' and 'Zaohongbaoshi' sweet cherry during different stages of dormancy

份都已经进入自然休眠。此后萌芽率继续降低,从 11月 20日至 12月 10日进入深休眠阶段,之后慢慢回升。红灯和早红宝石花芽、叶芽的萌芽率分别于 12月 25日和 12月 20日超过 50%,表明自然休眠解除。早红宝石结束自然休眠的时间比红灯提前大约 1周,说明早红宝石的需冷量较红灯低。

## 2.2 甜樱桃芽自然休眠期间酚类物质含量变化动态

图 2表明:两品种间总酚含量有明显的差别,红灯花芽、叶芽中的总酚含量均高于早红宝石的。同一品种花芽中的总酚含量略高于叶芽。自然休眠期间两个品种的花芽和叶芽总酚含量的变化趋势相同,但是两个品种间总酚含量迅速上升和急剧下降的时间存在差异,而同一品种内花芽和叶芽间差异不大。早红宝石在 11月 3日之后总酚含量迅速上升,在 11月 21日至 12月 15日期间,维持较高水平,12月 15日以后急剧下降,12月底自然休眠结束后降至最低。而红灯总酚含量迅速上升和急剧下降的时间比早红宝石推迟大约 1周的时间。两个品种酚类物质总量的变化动态基本上与其自然休眠的进程相符。

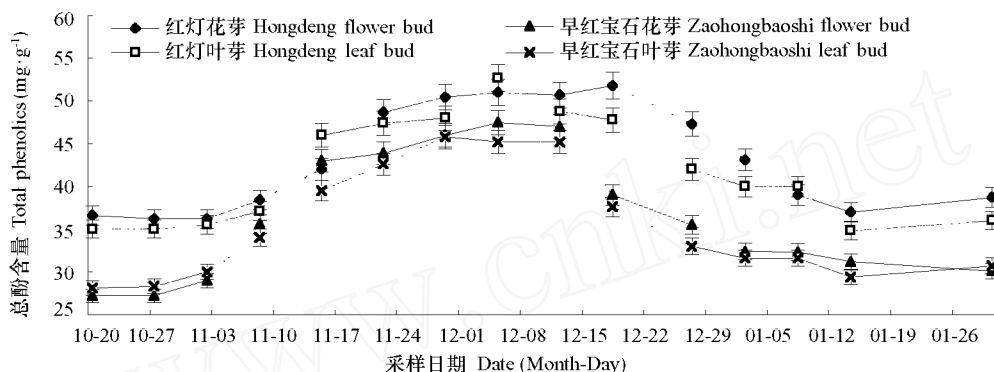


图 2 甜樱桃自然休眠期间酚类物质含量变化动态

Fig 2 Changes of phenolics content of sweet cherry buds during dormancy

## 2.3 自然休眠期间 PAL 活性变化动态

如图 3所示,自然休眠过程中红灯、早红宝石两品种花芽和叶芽中 PAL 活性变化趋势相似,其变化动态与总酚含量变化动态相一致。同一品种花芽和叶芽 PAL 活性差别不大,并且变化趋势相同。自然休眠前期芽体中 PAL 活性比较低,红灯和早红宝石两品种 PAL 酶活性分别于 11月 3日和 10月 27日迅速升高,分别于 11月 17日和 11月 10日达到高峰,并维持较高水平,分别于 12月 8日和 12月 1日急剧下降。随着自然休眠的结束 PAL 活性降到最低值,直至萌芽前都维持较低水平。PAL 活性迅速上升和急剧变化的时间与酚类物质含量变化一致,说明 PAL 是调控酚类物质含量的关键酶之一,并通过调控酚类物质的含量而影响自然休眠进程。

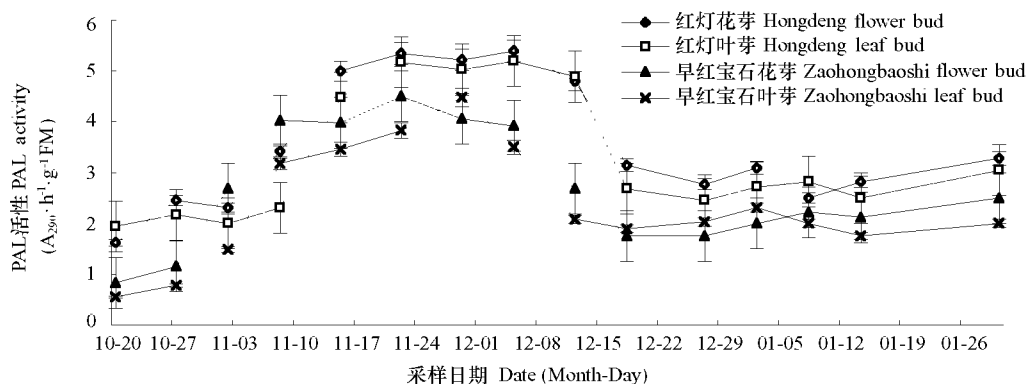


图 3 甜樱桃自然休眠期间 PAL 活性变化

Fig 3 Changes of PAL activity of sweet cherry buds during dormancy

## 2.4 自然休眠期间 PPO 活性变化动态

结果 (图 4) 表明,红灯花芽、叶芽中的 PPO 活性均高于早红宝石。与酚类物质的变化趋势不

同, PPO活性在自然休眠期间一直保持上升趋势, 休眠前期上升比较缓慢, 后期迅速升高, 待休眠结束后继续缓慢的上升并且一直保持较高水平。红灯和早红宝石两品种的变化趋势相同但早红宝石 PPO活性迅速上升和达到顶峰的时间较红灯早。红灯和早红宝石分别在 12月5日和11月29日迅速上升, 分别在12月18日和12月12日达到高峰, 之后, PPO活性有所波动但整体处于较高水平。

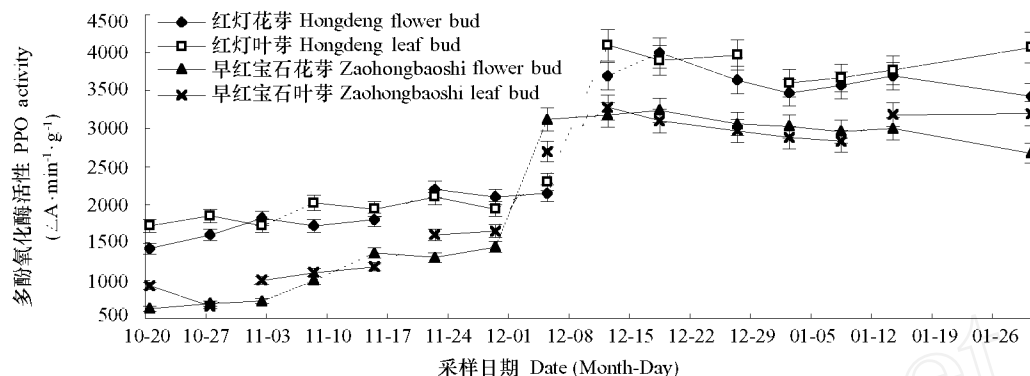


图 4 甜樱桃自然休眠期间多酚氧化酶活性变化动态

Fig. 4 Changes of PPO activity of sweet cherry buds during dormancy

## 2.5 不同温度对甜樱桃休眠芽酚类物质含量的影响

利用人工控制温度的方式探讨自然休眠过程中不同温度对红灯花芽酚类物质含量的影响。结果 (图 5) 表明, 自然休眠前期, 自然条件下酚类物质含量总体呈升高趋势, 3种温度处理虽然没有改变其变化趋势, 但是 20 加速了红灯花芽内酚类物质的积累; 5 /20 变温与对照差别不大; 5 减缓了酚类物质的积累。

自然休眠中期, 自然条件下, 酚类物质含量较高并保持稳定, 20 酚类物质含量增加; 5 /20 变温影响效果不明显; 5 酚类物质含量前期上升后期急剧下降, 说明 5 提前使酚类物质达到最高值。

自然休眠后期, 自然条件下, 酚类物质的含量呈下降趋势, 20 处理使酚类物质含量前期上升, 后期下降, 但是下降幅度与对照相比明显缓慢; 5 /20 处理也呈先上升后下降的趋势, 延缓了酚类物质的下降, 但是没有 20 明显; 5 加速了酚类物质的降低, 处理后 10 d降至最低, 以后保持稳定。

不同温度在休眠的不同时期通过影响酚类物质的含量而影响休眠的进程。5 /20 处理效果不明显, 说明 20 高温有可能抵消了 5 低温的作用。

## 3 讨论

本试验结果说明红灯、早红宝石 10月份已经进入自然休眠阶段, 11月下旬至 12月上旬自然休

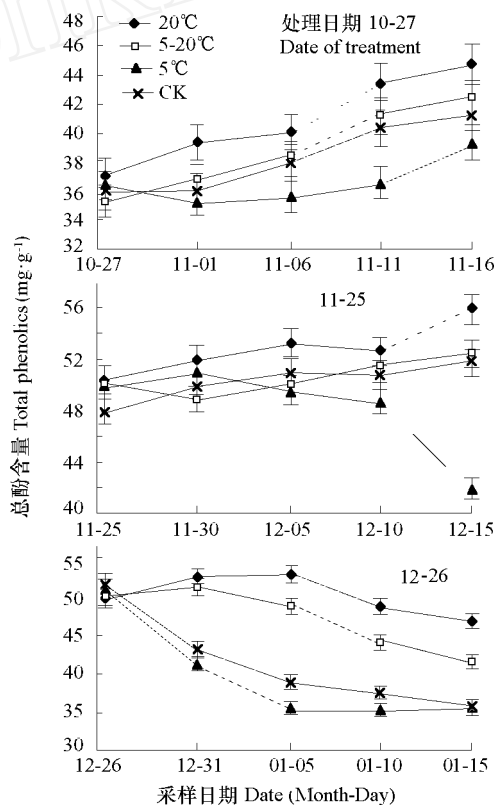


图 5 不同休眠时期不同温度处理对‘红灯’花芽酚类物质含量的影响

Fig. 5 Effects of different time, different temperature treatment on ‘Hongdeng’ sweet cherry flower buds

眠达到最深层, 12月下旬完全结束自然休眠。自然休眠期间, 酚类物质含量在前期迅速升高, 中期达到最高水平, 后期急剧下降, 休眠结束下降至最低点。酚类物质含量的变化与自然休眠进程关系明显。酚类物质的增加促使进入自然休眠, 酚类物质的降低, 诱导自然休眠的结束, 因此认为酚类物质是休眠的抑制物质。

酚类物质对某些激素或与激素合成有关的酶系统产生影响<sup>[7]</sup>, 酚类物质对自然休眠的调控是酚类物质本身还是其通过调节芽体中激素的含量而起作用, 这个问题有待进一步研究。

酚类物质的合成都是在水溶性酚类物质的基础上进行的。苯丙氨酸的脱氨基是水溶性酚类物质合成的第一步, 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 是催化这一过程的关键酶<sup>[8]</sup>。试验结果表明, PAL 的活性变化与酚类物质的变化动态一致, 说明苯丙氨酸解氨酶是通过调节酚类物质的含量影响自然休眠的进程。多酚氧化酶 (PPO) 是酚类物质氧化过程中的关键酶, PPO 活性变化动态与总酚含量的增减相吻合。说明 PPO 和 PAL 一样都通过调节酚类物质含量影响休眠进程。

低温诱导休眠, 而休眠尤其是自然休眠的解除必须有低温的积累<sup>[9]</sup>。5 在休眠前期延缓了酚类物质的积累, 中期提前使其达到最高峰, 后期加速其降低, 导致休眠提前结束。据犹它模型高于 16 对休眠的解除具有负作用<sup>[10]</sup>, 本试验中, 20 促进酚类物质的前期积累, 后期延缓了酚类物质的降低, 从总体来看延长了休眠持续的时间。5 /20 变温 5 对休眠解除的贡献由于 20 的高温抵消作用, 因此对休眠解除的效果不明显。

温带落叶果树的休眠是为了度过冬季不适宜的环境条件而经历的一个发育过程, 包含了贮藏物质的动员、花器官的进一步分化等。休眠是一个受各种内外因素影响的过程, 这些因素的相互作用决定了休眠解除的时间<sup>[9]</sup>。前人研究表明, 影响芽休眠的因素有激素平衡、芽中的水分状态、影响低温抗性及生长启动的膜的结构、芽的同化潜能和过氧化氢水平等, 但是影响芽休眠的因素不仅仅只有已经发现的几种, 影响因子的复杂性使提出一个“统一的休眠理论”任重而道远。可见促进休眠、维持休眠、解除休眠的机理不是一种而是多种。酚类物质是植物体内次生代谢形成的一系列成分复杂的物质, 目前已经发现了上万种含有一个或多个酚残基的化合物, 本文只探讨了总酚含量与自然休眠进程的关系, 具体是酚类物质中的哪几种起关键作用, 有待进一步研究。

## 参考文献:

- 1 陈伟, 叶明志, 周洁. 植物酚类物质研究进展. 福建农业大学学报, 1997, 26 (4): 502~508  
Chen W, Ye M Z, Zhou J. Advances on plant phenolics. Journal of Fujian Agricultural University, 1997, 26 (4): 502~508 (in Chinese)
- 2 Weidner S, Amarowicz R, Karamac M. Phenolic acids in caryopses of two cultivars of wheat rye and triticale that display different resistance to pre-harvest sprouting. European Food Research and Technology, 1999, 210: 109~113
- 3 King R W. Abscissic acid in seed development. In: Khan A A ed. The physiology and biochemistry of seed development and germination. Amsterdam: Elsevier, 1982. 157~181
- 4 肖纯, 张凯农. Folin试剂测定茶中酚类化合物. 茶叶通讯, 1995, 3: 29~31  
Xiao C, Zhang K N. Measuring phenolics in tea with Folin. Chinese Bulletin of Tea, 1995, 3: 29~31 (in Chinese)
- 5 罗晓芳, 田砚亭, 姚洪军. 组织培养过程中 PPO 活性和总酚含量的研究. 北京林业大学学报, 1999, 21 (1): 92~95  
Luo X F, Tian Y T, Yao H J. Polyphenol oxidase activities and phenol contents in tissue culture. Journal of Beijing Forestry University, 1999, 21 (1): 92~95 (in Chinese)
- 6 李合生, 孙群, 赵士杰, 章文华. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 213~214  
Li H S, Sun Q, Zhao S J, Zhang W H. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment. Beijing: Higher Education Press, 2000. 213~214 (in Chinese)
- 7 Romani R J. Salicylic acid inhibition of ethylene production by apple discs and other plant tissue. J. Plant Growth Regulation, 1989, 8 (6): 63~68
- 8 Harborne J B. Plant phenolics. Bell E A, Charlwood B V. Secondary plant products. Berlin: Springer-Verlag Berlin Plant, 1980. 329~405
- 9 高东升. 设施果树自然休眠生物学研究: 博士论文. 泰安: 山东农业大学, 2001. 8~9, 12~14  
Gao D S. Studies on endodormancy biology of deciduous fruit tree in protected cultivation: [Ph. D. Dissertation]. Taian: Shandong Agricultural University, 2001. 8~9, 12~14 (in Chinese)
- 10 Richardson E A, Seeley S D, Walker D R. A model for estimating the completion of rest for 'Red haven' and 'Elberta' peach trees. Hort Science, 1974, 14 (2): 159~166