

# 脐橙在不同生境下果实蔗糖代谢相关酶的研究

龚荣高<sup>1</sup> 张光伦<sup>1\*</sup> 吕秀兰<sup>1</sup> 曾秀丽<sup>1</sup> 罗楠<sup>2</sup> 胡强<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 四川农业大学园艺系, 雅安 625014; <sup>2</sup>四川省农业厅, 成都 610000)

**摘要:** 研究了四川 3 个生态型区 5 个代表性果园中的脐橙果实蔗糖合成酶 (SS) 和蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 的活性变化及其与果实糖积累的关系。结果表明: SPS 是影响果实膨大期糖积累的重要酶, 而成熟期的关键酶则是 SS 合成方向; 在不同生境下, 果实内 SPS 和 SS 分解方向活性差异不明显, 而 SS 合成方向活性的差异则达到极显著水平, 说明虽然 SS 分解方向和合成方向都通过调节果实库强而影响糖的运输和积累, 但 SS 合成方向才是引起不同生境下脐橙果实含糖量差异的关键酶。

**关键词:** 柑橘; 脐橙; 生境; 糖积累; 蔗糖合成酶; 蔗糖磷酸合成酶

**中图分类号:** S 666 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 06-0719-04

## Studies on the Sucrose-metabolizing Enzymes in Navel Orange Fruit from Different Habitats

Gong Ronggao<sup>1</sup>, Zhang Guanglun<sup>1\*</sup>, Lü Xiulan<sup>1</sup>, Zeng Xiuli<sup>1</sup>, Luo Nan<sup>2</sup>, and Hu Qiang<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Department of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; <sup>2</sup> Agricultural Department of Sichuan Province, Chengdu 610000, China)

**Abstract:** 'Robertson Navel' orange fruits from five representative areas of three ecotypes in Sichuan province were used to study soluble sugar accumulation and their related enzymes during the fruit development, especially the changes in activities of sucrose phosphate synthase (SPS) and sucrose synthase (SS). The results showed that SPS played an important role in sugar accumulation in fruit during the fruit inflating stage, while SS in the synthetic direction was the key enzyme during the fruit ripening stage. The activities of SPS and SS in the cleavage direction in fruit were similar between different habitats, whereas SS activity in the synthetic direction changed significantly in the different habitats. It was suggested that although SS in the cleavage and synthetic direction regulated the sugar transport and accumulation through fruit sink strength, SS in the synthetic direction was the dominant enzyme which led sugar different accumulation in different habitats.

**Key words:** Citrus; Navel orange fruit; Habitat; Sugar accumulation; Sucrose synthase (SS); Sucrose phosphate synthase (SPS)

在不同生境下脐橙果实可溶性糖含量存在明显的差异, 其生态生理机制尚有待研究。蔗糖代谢是果实糖积累的重要环节, 蔗糖代谢相关酶的研究则是探讨果实糖分积累的重要内容。转化酶、蔗糖合成酶 (SS) 和蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 被认为是许多果实蔗糖代谢的关键酶<sup>[1~5]</sup>。由于转化酶在甜橙等果实发育早期就基本消失<sup>[6,7]</sup>, SS 和 SPS 成为影响甜橙果实糖积累的主要酶。目前, 尚未见有关在不同生境下对脐橙果实糖代谢相关酶变化动态的研究报道。本文报道不同生境下 SS 的合成和分解及 SPS 活性在果实发育过程中的变化动态, 探讨脐橙果实蔗糖代谢相关酶中引起不同生境下果实含糖量差异的主要酶, 为进一步研究和调控脐橙果实糖积累提供理论依据。

收稿日期: 2004 - 04 - 19; 修回日期: 2004 - 10 - 08

基金项目: 四川省农业厅重点资助项目 (2001 - 2005)

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: zhangguanglun@sohu.com)

1 材料与方法

分别选取四川省脐橙果实品质和生态条件差异较大的 3 大类生态代表型区的 5 个有代表性的果园：A. 南亚热带金沙江、雅砻江干热河谷生态型区的攀枝花市盐边县红格镇和安宁镇；B. 中亚热带季风气候区的长江中上游宜宾市江安县；C. 中北亚热带湿热少日照生态型区的雅安四川农业大学园艺站和名山县。这 5 个代表性果园的主要生态因子见表 1。

表 1 代表型区的主要生态因子  
Table 1 Main ecofactors of the representative eco-type areas (2002)

代表型区 Representative eco-type areas	年平均气温 Annual T ( )	年降水量 Annual rainfall (mm)	年日照数 Annual light hours (h)	10 积温 Annual accumulated T( )	年空气相对 湿度 Annual relative humidity( %)	海拔高度 Altitude (m)	植被类型 Vegetation
雅安 Ya'an	16.5	1439.6	1039.6	5026	80	610	常绿阔叶林 Lauriliguosa
名山 Mingshan	16.9	1245.1	1040	5381	81.5	639	常绿阔叶林 Lauriliguosa
江安 Jiang'an	18.8	968.5	1386	6143.8	83	412	常绿阔叶林 Lauriliguosa
红格 Hongge	19.1	743.8	2358.3	6932	68	1476	稀树灌木草原 Savanna-like vegetation
安宁 Anning	19.4	757.4	2361.5	7069	71	1097	稀树灌木草原 Savanna-like vegetation

分别在这 5 个代表园中选取 10 年生、树势健壮、常规栽培管理并相对一致的红橘砧 ‘罗伯逊脐橙’ (*Citrus sinensis* Osb.) 5 株，从花后 60 d 开始，每 15 d 取样果 1 次，每次按树冠外围中部的东、南、西、北和顶部随机采取中等大小果实每株 5 个，置于 - 20℃ 冷冻保存备用。

果实糖分的提取方法参照文献 [8]。糖分的测定用蒽酮硫酸法，其中每个反应体系中包含取样液 0.25 mL，蒸馏水 0.75 mL，0.14 % 的蒽酮硫酸溶液 3 mL。

酶的提取在 0~4℃ 条件下进行。以果实中心柱为对称轴，将每样果剖分为 4 份，取对称的两份，并在这两份的可食部分取样，称取混合样 1~2 g 于研钵中。SPS 和 SS 的提取参照 Kubo 等<sup>[9]</sup>和赵智中等<sup>[5]</sup>的方法，其中酶液脱盐方法改为用 80 % 饱和度的 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 沉淀酶蛋白，并用 10 mmol L<sup>-1</sup> Hepes-NaOH 脱盐缓冲液 (含 MgCl<sub>2</sub> 0.25 mmol L<sup>-1</sup>，EDTA 1 mmol L<sup>-1</sup>，EGTA 1 mmol L<sup>-1</sup>，- 巯基乙醇 0.01 %，BSA 0.05 % 和甘油 0.2 %，pH 7.5) 将其溶解，装入透析袋，在脱盐缓冲液中透析 16 h，脱盐后的酶提取液用于酶活性分析测定。

SS 的合成和分解方向及 SPS 的活性测定参照 Lowell 等<sup>[5]</sup>及赵智中等<sup>[5]</sup>的方法。

2 结果与分析

2.1 名山 ‘罗伯逊脐橙’ 蔗糖代谢相关酶活性的变化

从图 1 可见，脐橙果实中 SPS 活性在幼果期很低，随着果实的发育，活性迅速增加并在花后 150 d 达到高峰，之后迅速下降，一直到成熟期都保持在较低水平。SPS 活性在花后 150 d 后快速下降时，SS 合成方向活性则较快回升。果实内 SS 活性在整个发育期相对较高，说明 SS 在果实发育中对果实糖代谢起着重要作用。花后 60~150 d SPS 活性与果实可溶性糖含量的相关系数达 0.9317<sup>\*\*</sup>，而花后 150~195 d SS 合成方向活性与果实可溶性糖含量的相关系数为 0.9636<sup>\*\*</sup> (表 2)，表明

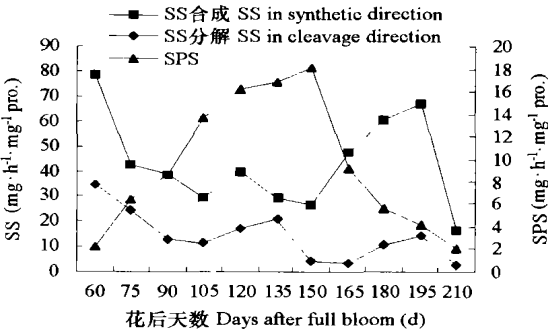


图 1 名山 ‘罗伯逊脐橙’ 果实中 SS 和 SPS 活性的变化  
Fig. 1 Changes in SS activity and SPS activity during development of ‘Robertson Navel’ orange fruit in Mingshan

SPS 和 SS 合成方向分别是果实膨大期和果实成熟期影响果实可溶性糖积累的重要酶。在果实整个发育期，SS 合成与分解方向活性变化趋势相似，且 SS 分解方向活性的两次回升，分别出现在花后 105 d SPS 活性上升阶段和花后 165 d SS 合成方向活性上升阶段，表明 SS 分解方向在这两阶段参与果实糖积累。

2.2 不同生境下脐橙果实可溶性糖的含量

不同生境下脐橙果实可溶性糖含量差异较大(表 3)。果实含糖量由高到低的顺序为红格、江安、安宁>名山>雅安。对不同生境下果实含糖量进行显著性测验结果表明，红格和江安之间没有显著差异，并极显著高于名山和雅安，安宁极显著高于名山和雅安，名山与雅安之间的差异不显著，表明不同生境条件影响脐橙果实可溶性糖积累。

2.3 不同生境下脐橙果实 SPS 和 SS 的活性

对不同生境下 SPS 和 SS 分解方向活性进行主效应方差分析，结果表明不同生态区之间‘罗伯逊脐橙’果实中 SPS 和 SS 分解方向活性的差异并不显著(图 2 和图 3)，SS 合成方向活性的差异达极显著水平(图 4)，说明不同生境条件影响脐橙果实中 SS 合成方向活性。将不同生境下果实内 SS 合成方向活性多重比较分析发现，SS 合成方向活性在南亚热带(红格、江安)和中亚热带(安宁)极显著高于在中北亚热带试验点(名山、雅安)，而雅安与名山之间、红格与安宁之间的差异不显著。

表 2 果实可溶性糖含量与 SPS 和 SS 合成方向酶活力的相关分析

Table 2 Relational analysis between soluble sugar content and activity of SPS and SS in the synthetic direction			
花后天数 Days after full bloom(d)	可溶性糖含量 Soluble sugar content (mg g <sup>-1</sup> FM)	酶活性 Activities(mg h <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> pro.)	
		SPS	SS 合成方向 SS in synthetic direction
60	21.2	2.3	—
75	20.7	6.4	—
90	34.1	8.6	—
105	47.5	13.6	—
120	54.9	16.2	—
135	63.7	16.8	—
150	83.8	18.1	26.2
165	89.2	—	48
180	90.4	—	60.5
195	95.2	—	67.5
相关系数 Relational coefficient		0.9317 **	0.9636 **

\* 表示 1 % 显著水平。\* \* Denotes significant difference at 1 %.

表 3 不同生境下‘罗伯逊脐橙’果实可溶性糖含量

Table 3 The soluble sugar content of ‘Robertson Navel’ orange fruit from different habitats (mg mL <sup>-1</sup> )			
地点 Place	总糖 Total sugar	蔗糖 Sucrose	还原糖 Reducing sugar
红格 Hongge	108.9 Aa	50.5 Aa	58.4 Aa
江安 Jiang'an	103.8 Aa	47.0 Aab	56.8 Aa
安宁 Anning	102.0 Aab	45.9 Ab	56.1 Aa
名山 Mingshan	84.3 Bbc	39.7 BCc	44.6 Bb
雅安 Ya'an	80.0 Bc	36.5 Cc	43.5 Bb

注：采样时间花后 225 d。不同大小字母分别表示 P<0.01 和 P<0.05 显著差异。

Note :Fruits were sampled at 225 days after full bloom ;different capital and small letters indicate the significant differences between the treatments at P<0.01 and P<0.05 level ,respectively.

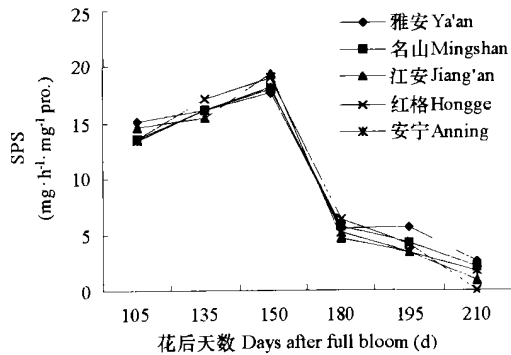


图 2 不同生境下‘罗伯逊脐橙’果实中 SPS 活性  
Fig. 2 SPS activity of ‘Robertson Navel’ orange fruit from different habitats

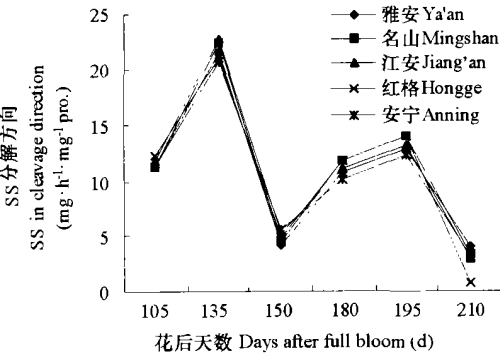


图 3 不同生境下‘罗伯逊脐橙’果实中 SS 分解方向活性  
Fig. 3 The SS activity in the cleavage direction of ‘Robertson Navel’ orange fruit from different habitats

### 3 讨论

在缺少转化酶的情况下,影响甜橙果实糖积累的主要酶是 SPS 和 SS<sup>[10]</sup>。本试验发现,SPS 是影响脐橙果实膨大期可溶性糖含量的主要酶,而成熟期则主要是 SS 合成方向,表明 SPS 和 SS 合成方向对果实糖积累的作用具有阶段性。SS 分解方向在果实膨大期和成熟期对果实糖积累的作用可能主要与调节果实库强有关,因为在缺少转化酶的条件下,SS 分解方向成为催化蔗糖分解的关键酶<sup>[10]</sup>,对调节果实内蔗糖浓度梯度有重要意义。据此可以认为,果实糖积累又是糖代谢相关酶综合作用的结果。

虽然 SPS 和 SS (分解和合成方向)是影响甜橙果实糖积累的重要酶<sup>[10]</sup>,但不同生境下,‘罗伯逊脐橙’果实中 SPS 活性和 SS 分解方向活性差异并不显著,表明生境条件对 SPS 活性和 SS 分解方向活性的影响较小,它们不是引起不同生态区果实含糖量差异的主要酶。

不同生境下脐橙果实内 SS 合成方向活性存在极显著差异,红格、安宁和江安极显著高于其它两个生态区,从高到低的顺序与果实含糖量差异的顺序相吻合,都表现为在南亚热带和中亚热带极显著高于在中北亚热带。由此,本试验结果首次表明,SS (合成方向)是引起不同生境下果实含糖量差异的关键酶。SS (合成方向)可能主要通过调节果实库强影响糖的运输和积累<sup>[2,10,11]</sup>,从而引起不同生境下脐橙果实糖含量发生变化。至于不同生境下影响 SS 合成方向活性差异的内外因素尚有待进一步深入研究。

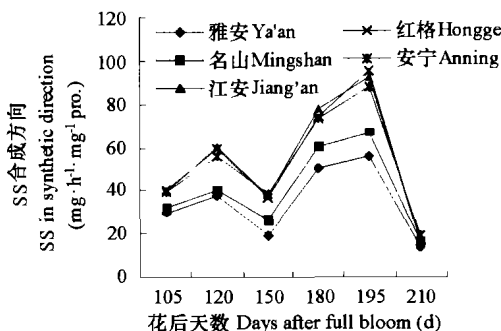


图4 不同生境下‘罗伯逊脐橙’果实中 SS 合成方向活性

Fig. 4 The SS activity in the synthetic direction of ‘Robertson Navel’ orange fruit from different habitats

### 参考文献:

- 1 吕英民, 张大鹏. 果实发育过程中糖的积累. 植物生理学通讯, 2000, 36 (3): 258 ~ 265
- 2 Hubbard N L, Parr D M, Huber S C. Sucrose-phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruit of various species. *Physiol. Plant*, 1991, 82: 191 ~ 196
- 3 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. 园艺学报, 2001, 28 (2): 112 ~ 118
- 4 Moriguchi T, Sanada T, Yamaki S. Seasonal fluctuations of some enzymes relating to sucrose and sorbital metabolism in peach fruit. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 1990, 115: 278 ~ 281
- 5 Lowell C A, Tomlison P T, Koch K E. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissues and adjacent sink structures in developing citrus fruit. *Plant Physiol.*, 1989, 90: 1394 ~ 1402
- 6 Kato T, Kubota S. Properties of invertases in sugar storage tissues of citrus fruit and changes in their activities during maturation. *Physiol. Plant*, 1978, 42: 67 ~ 72
- 7 Cheverria E, Gonzalez P C, Brune A. Characterization of proton and sugar transport at the tonoplast of sweet lime (*Citrus limmetioides*) juice cells. *Physiol. Plant*, 1997, 101: 291 ~ 300
- 8 中国科学院上海植物生理所, 上海市植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 127 ~ 128
- 9 Kubo T, Izumi H, Hiratsuka S. Sucrose accumulation and its related enzyme activities in the juice sacs of satsuma mandarin fruit from trees with different crop loads. *Sci. Hort.*, 2001, 91: 215 ~ 225
- 10 龚荣高, 张光伦. 柑橘果实糖代谢的研究进展. 四川农业大学学报, 2003, 21 (4): 343 ~ 346
- 11 Ho L C. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1988, 39: 355 ~ 378