

蔗糖代谢相关酶在温州蜜柑果实糖积累中的作用

赵智中¹ 张上隆¹ 徐昌杰¹ 陈昆松^{1,2} 刘拴桃²

(¹ 浙江大学园艺系, 杭州 310029; ² 浙江大学生命科学学院, 杭州 310029)

摘 要: 在不同发育时期测定了宫川温州蜜柑果实中蔗糖、葡萄糖和果糖含量以及蔗糖代谢相关酶——酸性转化酶 (AI)、中性转化酶 (NI)、蔗糖合成酶 (SS) 和蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 的活性, 并对果实中糖积累与酶活性的关系进行了分析。结果表明: 蔗糖代谢相关酶的综合作用 (蔗糖代谢相关酶的净活性) 是影响果实糖积累的重要因子之一。膨大期末至着色期初是果实中糖积累和蔗糖代谢相关酶的净活性变化的转折时期。着色期前果实中蔗糖代谢相关酶的净活性为负值, 蔗糖缓慢积累; 进入着色期蔗糖代谢相关酶的净活性转为正值, 蔗糖积累迅速。完熟期果皮组织中蔗糖代谢相关酶的净活性为负值, 己糖积累明显高于可食组织。

关键词: 柑桔类; 温州蜜柑; 糖积累; 转化酶; 蔗糖合成酶; 蔗糖磷酸合成酶

中图分类号: S 666; Q 945 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 02-0112-07

蔗糖、葡萄糖和果糖是柑橘果实中主要的可溶性糖, 其含量对果实品质起重要作用。与蔗糖代谢和积累密切相关的酶主要有酸性转化酶 (acid invertase, AI)、中性转化酶 (neutral invertase, NI)、蔗糖合成酶 (sucrose synthase, SS) 和蔗糖磷酸合成酶 (sucrose phosphate synthase, SPS)。在高等植物中 AI 和 NI 催化蔗糖分解为单糖, SS 既能催化蔗糖合成又能催化蔗糖分解, SPS 被认为是催化蔗糖合成的主要酶。关于糖积累与蔗糖代谢相关酶的关系在甘蔗^[1]、甜菜^[2]、番茄^[3,4]、香瓜^[5]、甜瓜^[6]及一些果树中已有报道, 结果显示上述酶类在糖的运输、代谢和积累中起重要作用。对果树的研究表明, 在苹果^[7]和葡萄^[8]果实发育早期蔗糖含量与转化酶活性呈负相关; 在成熟香蕉^[9]和猕猴桃^[10]等果实中 SPS 活性的升高与蔗糖的积累密切相关; SS 在桃果实发育后期蔗糖积累中可能起重要作用^[11]。Komatsu 等^[12]发现兴津温州蜜柑果实糖积累特点与葡萄柚^[13]明显不同, 他认为这主要是由于两种果实中 SPS 的活性变化不同所引起。我们以宫川温州蜜柑为试材, 对果实发育过程中糖积累和蔗糖代谢相关酶进行了系统研究, 旨在探索柑橘果实糖积累的机理, 为进一步调控提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试果实取自浙江省农科院柑橘研究所 (台州市黄岩) 果园内 12 年生枳砧宫川温州

收稿日期: 2000 - 10 - 19; 修回日期: 2001 - 01 - 08

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (39730340)

蜜柑 (*Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa wase)。盛花期为 4 月 28~30 日。根据果实的鲜重和外观色泽变化将果实的发育大体划分为幼果期 (4 月底~6 月下旬)、膨大期 (7 月上旬~9 月中旬)、着色期 (9 月中旬~10 月中旬) 和完熟期 (10 月中旬~11 月中旬)。分别于 6 月 3 日 (花后 5 周)、7 月 8 日 (花后 10 周)、8 月 12 日 (花后 15 周)、9 月 16 日 (花后 20 周)、10 月 14 日 (花后 24 周) 和 11 月 15 日 (花后 28.6 周) 选择有代表性的植株进行果实取样, 试验重复 3 次。

果实采后立即放入 -20℃ 冰箱储存。分析时将果实分为可食组织 (汁胞 + 囊瓣表皮) 和果皮组织 (外皮层 + 白皮层), 分别测定糖含量和酶活性。

1.2 糖的分析

糖的提取参照 Komatsu 等^[12]和 Lowell 等^[13]的方法, 并加以改进。称取 12 个果的混合样, 液 N₂ 中研磨 3~5 min, 加提取液 (乙醇: 氯仿: 水 = 12: 5: 3) 再匀浆 3~5 min, 5 000 g 离心 15 min, 取上清液, 重复 3 次。合并提取液, 转入分液漏斗, 加水使之分层, 5 000 g 离心 10 min 去除氯仿层, 用 0.1 mol L⁻¹ NaOH 调 pH 值至 7.0, 在 40℃ 真空中干燥, 蒸馏水定容, 用高效液相色谱 (BECKMAN) 测定糖的含量。色谱条件为: 流动相 (乙腈/重蒸水 = 70/30, v/v) 流速 1 mL min⁻¹, 碳水化合物柱, 柱温 25℃, 156 示差检测器, System Gold Software 控制及数据处理系统。

1.3 酶的提取

酶的提取在 0~4℃ 条件下进行。转化酶的提取参照 Lowell 等^[13]和 Hubbard 等^[5]的方法, 并加以改进。称取样品, 液 N₂ 中研磨 5~10 min, 加提取缓冲液 (200 mmol L⁻¹ 磷酸钾缓冲液, 5 mmol L⁻¹ MgCl₂, 0.1% - 巯基乙醇, 0.05% Triton-X 100, 0.05% BSA, 2% PVPP, pH 7.5) 再匀浆 3~5 min, 20 000 g 离心 30 min, 取上清液逐渐加 (NH₄)₂SO₄ 至 80% 饱和度, 放置 30 min, 20 000 g 离心 20 min, 去除上清液, 加脱盐缓冲液 (20 mmol L⁻¹ 磷酸钾缓冲液, 0.25 mmol L⁻¹ MgCl₂, 0.01% - 巯基乙醇, 0.05% BSA, pH 7.5) 重新溶解沉淀, 按照 Helmerhorst 等^[14]的方法用 Sephadex G25 柱离心脱盐, 脱盐后的酶提取液用于酶活性分析。

SPS 和 SS 的提取与转化酶相似, 只是提取缓冲液为 200 mmol L⁻¹ Hepes-NaOH (含 5 mmol L⁻¹ MgCl₂, 0.1% - 巯基乙醇, 0.05% Triton-X 100, 0.05% BSA, 2% PVPP, 1 mmol L⁻¹ EDTA, 1 mmol L⁻¹ EGTA, 10 mmol L⁻¹ 抗坏血酸钠, 10 mmol L⁻¹ 半胱氨酸 - 盐酸和 2% 甘油, pH 7.5); 脱盐缓冲液为 20 mmol L⁻¹ Hepes-NaOH (含 0.25 mmol L⁻¹ MgCl₂, 1 mmol L⁻¹ EDTA, 1 mmol L⁻¹ EGTA, 0.01% - 巯基乙醇, 0.05% BSA, 0.2% 甘油, pH 7.5)。

1.4 酶的活性测定

AI 活性测定按照 Lowell 等^[13]的方法, 并加以改进。在反应体系中含 80 mmol L⁻¹ 醋酸 - 磷酸钾 (pH 4.5), 100 mmol L⁻¹ 蔗糖, 酶提取液; 37℃ 反应 30 min, 加入 490 μL DNS 试剂终止反应, 沸水浴 5 min, 冷却后测定 A₅₄₀。用杀死的酶液作对照。NI 活性测定方法与 AI 类似, 只是醋酸 - 磷酸钾缓冲液的 pH 为 7.5。

SPS 活性测定参照 Komatsu 等^[12]、Lowell 等^[13]和 Hubbard 等^[5]的方法, 并加以改进。

在 70 μL 反应体系中含 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Hepes-NaOH 缓冲液 (pH 7.5), 15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaF, 16 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ UDP-Glucose, 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Fru 6-P, 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Gc 6-P, 酶提取液; 30 反应 30 min, 加入 70 μL 5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 终止反应, 沸水浴 10 min, 冷却后加入 1 mL 0.14 % 的蒽酮 (溶解在 13.8 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2SO_4 中), 40 反应 20 min, 测定 A_{620} 。对照反应体系中含 Fru 6-P 和 Gc 6-P。

SS 合成方向的活性测定参照 Lowell 等^[13]和 Hubbard 等^[5]的方法, 并加以改进。在 70 μL 反应体系中含 80 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Hepes-NaOH 缓冲液 (pH 8.5), 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCN, 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaF, 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 果糖, 15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ UDP-Glucose, 酶提取液; 30 反应 30 min, 加入 70 μL 5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 终止反应, 沸水浴 10 min, 冷却后加入 1 mL 0.14 % 的蒽酮 (溶解在 13.8 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2SO_4 中), 40 反应 20 min, 冷却后测定 A_{620} 。对照反应体系中含果糖。

SS 分解方向的活性测定参考 Lowell 等^[13]的方法。在 490 μL 反应体系中含 80 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mes 缓冲液 (pH 5.5), 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaF, 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖, 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ UDP, 酶提取液; 30 反应 30 min, 加入 490 μL DNS 试剂终止反应, 沸水浴 5 min, 冷却后测定 A_{540} 。对照反应体系中含 UDP。

2 结果与分析

2.1 温州蜜柑果实中糖的积累

对温州蜜柑果实糖含量测定结果 (图 1) 表明: 在可食组织中, 糖随果实的发育而积累。6 月 3 日糖含量都很低, 随后缓慢积累, 9 月 16 日之后积累速度开始加快直至完熟期。从糖的类型来看, 8 月 12 日之前蔗糖、葡萄糖和果糖几乎同步积累, 随后蔗糖积累速度趋缓, 9 月 16 日以后蔗糖积累速度明显加快, 含量从 30.29 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ FW 迅速升至 65.17 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ FW。至 11 月 15 日蔗糖成为可食组织中主要的糖, 占总糖的 56.60 %。在果皮组织中 (图 1), 10 月 14 日之前糖积累趋势与可食组织基本相似, 但其含量明显低于可食组织, 其中蔗糖的积累速度始终高于葡萄糖和果糖, 尤其是 9 月 16 日至 10 月 14 日。10 月 14 日后果皮组织中糖的积累情况与可食组织有明显差别; 其间蔗糖不再增加, 而己糖含量却急剧升高, 至 11 月 15 日己糖占总糖的 66.38 %。

2.2 温州蜜柑果实中蔗糖代谢相关酶的活性变化

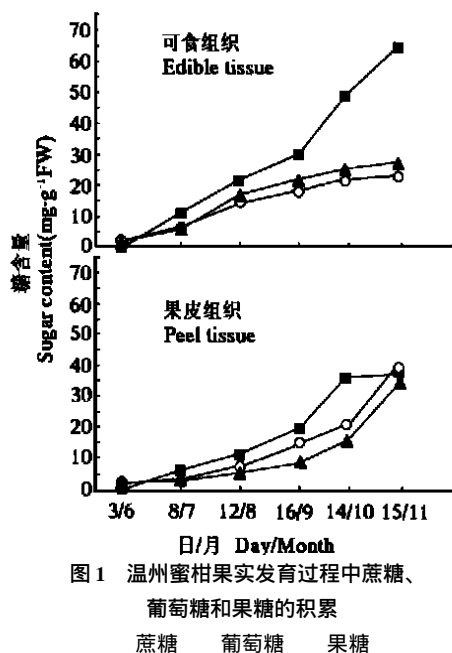


图 1 温州蜜柑果实发育过程中蔗糖、葡萄糖和果糖的积累
Fig. 1 Accumulation of sucrose, glucose and fructose in the developing satsuma mandarin fruits

2.2.1 转化酶 (AI, NI) 转化酶包括 AI 和 NI 两类, 其活性随果实的发育而变化 (图 2)。在可食组织中, 幼果期 AI 的活性较高 ($43.43 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$), 随果实发育而快速下降, 8 月 12 日活性降为 $8.97 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$, 到 9 月 16 日降至检测点之下直至果实完熟。幼果期可食组织中 NI 的活性亦较高 ($28.20 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$), 随后迅速下降, 8 月 12 日到 9 月 16 日之间降至检测水平以下, 着色期活性略有升高, 之后稳定在低水平。

在果皮组织中, AI 和 NI 活性的变化趋势十分相似, 都是前期活性较高 (二者中 AI 活性更高), 随果实发育而逐渐下降, 9 月 16 日降至最低水平, 后期又略有上升。

9 月 16 日以前可食组织和果皮组织中转化酶活性总的变化趋势相一致, 但进入完熟期果皮组织中转化酶活性的回升幅度明显超过可食组织。

2.2.2 蔗糖合成酶 (SS) 对 SS 的合成活性和分解活性分别进行测定, 结果 (图 3) 表明: 可食组织中 SS 的合成活性与分解活性的变化趋势基本相似, 即幼果期 SS 的合成和分解活性都较高 (但分解活性更高), 随后迅速下降, 7 月 8 日降至低水平直至完熟期。

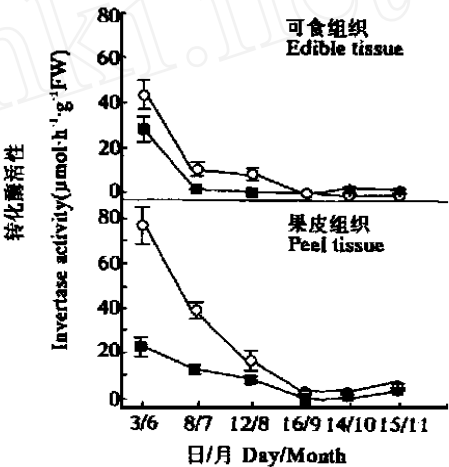


图 2 温州蜜柑果实发育过程中酸性转化酶 (AI) 和中性转化酶 (NI) 活性的变化

Fig. 2 Changes in acid invertase (AI) and neutral invertase (NI) activities in the developing satsuma mandarin fruits

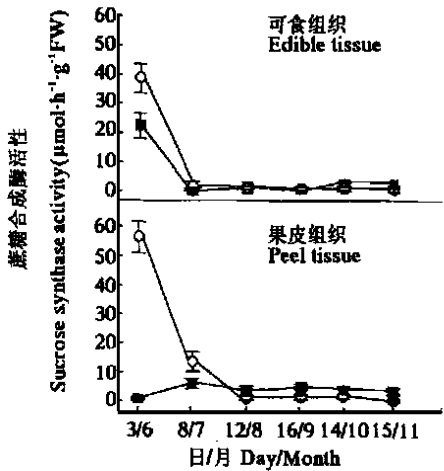


图 3 温州蜜柑果实发育过程中蔗糖合成酶的活性变化

Fig. 3 Changes in sucrose synthase activity in the developing satsuma mandarin fruits

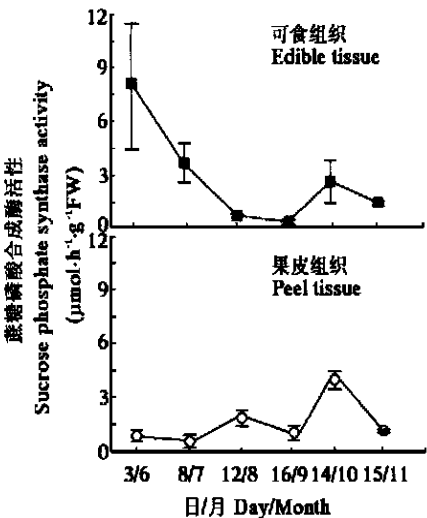


图 4 温州蜜柑果实发育过程中蔗糖磷酸合成酶活性的变化

Fig. 4 Changes in sucrose phosphate synthase activity in developing satsuma mandarin fruits

在果皮组织中, SS 的合成活性在幼果期较低, 之后略有上升。SS 的分解活性在幼果期较高, 随后下降。8 月 12 日以后 SS 的合成活性总是大于其分解活性。

2.2.3 蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 可食组织中 SPS 活性在幼果期较高 ($8.11 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$), 之后逐渐降低, 9 月 16 日降至最低点, 着色期略有升高 (至 $2.68 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$), 完熟期又趋下降 (图 4)。

果皮组织中 SPS 活性在 9 月 16 日之前一直较低 (低于 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$), 进入着色期后迅速升至最大值 ($4.08 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$), 在完熟期又趋下降 (图 4)。

2.3 温州蜜柑果实中蔗糖合成酶类、分解酶类及酶的净活性变化

蔗糖合成酶类活性包括 SPS 和 SS (合成方向) 的活性, 蔗糖分解酶类活性包括 AI、NI 和 SS (分解方向) 的活性, 前者减去后者即为蔗糖代谢相关酶的净活性 (以下简称为酶的净活性)。现将有关数据汇总 (表 1)。

表 1 温州蜜柑果实发育过程中蔗糖代谢酶的活性变化

Table 1 Activity changes in sucrose-metabolizing enzymes in developing satsuma mandarin fruit

发育时期 Developing stage (Day/ month)	蔗糖分解酶类的活性 Activity of enzymes on sucrose cleavage ($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)		蔗糖合成酶类的活性 Activity of enzymes on sucrose synthesis ($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)		酶的净活性 Net activity of enzymes ($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)	
	可食组织 Edible tissue	果皮组织 Peel tissue	可食组织 Edible tissue	果皮组织 Peel tissue	可食组织 Edible tissue	果皮组织 Peel tissue
3/ 6	110.22	156.34	30.58	2.07	- 79.63	- 154.27
8/ 7	14.77	66.56	3.90	7.08	- 10.86	- 59.48
12/ 8	9.56	28.09	2.56	6.21	- 7.87	- 21.88
16/ 9	1.70	5.25	2.03	6.64	+ 0.33	+ 1.39
14/ 10	4.14	7.19	5.42	8.49	+ 1.28	+ 1.30
15/ 11	3.66	12.92	3.89	5.46	+ 0.23	- 7.46

注: 蔗糖分解酶类的活性 = AI + NI + SS (分解方向); 蔗糖合成酶类的活性 = SPS + SS (合成方向); 酶的净活性 = SPS + SS (合成方向) - AI - NI - SS (分解方向)。

Note: Activity of enzymes on sucrose cleavage = AI + NI + SS (cleavage direction); Activity of enzymes on sucrose synthesis = SPS + SS (synthetic direction); Net activity of enzymes = SPS + SS (synthetic direction) - AI - NI - SS (cleavage direction).

从表 1 可知, 在可食组织中, 蔗糖分解酶类和合成酶类的活性变化趋势极为相似, 即幼果期最高, 随后下降, 9 月 16 日降至最低水平, 进入着色期略有升高, 完熟期又趋于下降。具体而言, 在 9 月 16 日之前, 可食组织中分解酶类的活性始终大于合成酶类 (特别是幼果期), 酶的净活性为负值。自 9 月 16 日起, 合成酶类酶的活性略为超过分解酶类, 净活性为正值。

在果皮组织中, 蔗糖合成酶类的活性除幼果期较低外, 与可食组织的变化基本一致, 而分解酶类的活性除完熟期呈上升趋势外, 亦与可食组织的变化较为相似。9 月 16 日之前, 酶的净活性为负值; 9 月 16 日至 10 月 14 日, 酶的净活性为正值; 随后蔗糖分解酶的活性再次超过合成酶类, 酶的净活性呈较大负值。

3 讨论

糖积累是果实品质形成的关键, 而蔗糖代谢又是糖积累的重要环节, 故许多学者试图

从蔗糖代谢相关酶的活性变化来探讨果实糖积累的机理。十多年来人们对苹果^[7]、葡萄^[8]、猕猴桃^[10]、草莓、芒果^[15]、桃^[11]和柑橘^[12,13]的研究表明,蔗糖代谢相关酶与果实糖积累之间存在密切联系,这无疑为进一步了解果实糖积累机理奠定了基础。我们研究发现,在温州蜜柑果实的不同发育阶段和不同组织中,不同的酶对糖积累的影响不完全一致。幼果期和膨大期温州蜜柑果实中转化酶对蔗糖积累的影响较大,随着转化酶活性降低,蔗糖逐渐积累。这与苹果^[7]和葡萄^[8]果实发育早期蔗糖含量与转化酶活性呈负相关相一致。进入着色期果实中蔗糖的迅速积累与 SPS 活性升高相一致。这样的结果在香瓜^[6]、香蕉^[9]、猕猴桃^[10]、草莓、芒果^[15]和兴津温州蜜柑^[12]果实中也有报道。完熟期在(宫川温州蜜柑果实)果皮组织中随着转化酶活性升高己糖迅速积累。这与桃果实发育后期己糖积累与 AI 活性上升有关^[11]相类似。

在草莓果实中蔗糖浓度升高时,SPS、NI 和 SS 的活性都上升^[16];桃果实蔗糖积累过程中,SPS 活性保持稳定,转化酶活性呈下降趋势^[17]。这说明几种蔗糖代谢相关酶可能同时对果实糖积累产生影响,因此在研究糖积累机理时应考虑几种蔗糖代谢相关酶的综合作用。酶的净活性就是反映这种综合作用的指标。幼果期果实中酶的净活性为很高的负值,这时果实中糖的含量几乎接近于零(图 1)。这可能是因为幼果中旺盛的新陈代谢和细胞分裂消耗的物质和能量较多,光合产物进入果实后被酶分解(并被进一步利用和消耗)的比例较大。膨大期果实中蔗糖代谢相关酶的合成活性、分解活性以及酶的净活性都在降低,果实中糖分缓慢积累。这暗示膨大期果实中新陈代谢活动在逐渐减弱,光合产物进入果实后被分解和消耗的比例减小,部分得以积累。进入着色期果实膨大已基本停止,酶的净活性也变为正值,蔗糖积累速度加快,说明此时蔗糖在进入果实后被分解和消耗的比例相对较少。完熟期果皮组织中酶的净活性再次呈现负值,己糖迅速积累。可见蔗糖代谢相关酶对果实中糖的积累具有重要影响。上述结果表明蔗糖代谢相关酶的综合作用——即酶的净活性是影响温州蜜柑果实糖积累的重要因子之一。9 月 16 日前后是果实中糖积累和酶的净活性变化的转折时期。

完熟期末可食组织中酶的净活性虽为正值,但已接近零,蔗糖仍以较快速度积累,说明部分蔗糖可能是由叶片直接运入并积累。这与 Vizzotto 等^[17]推断桃果实中蔗糖的积累部分是由于直接运入相一致。¹⁴CO₂ 标记叶片试验证实,包括完熟期在内的整个发育过程中,叶片光合产物(主要是蔗糖)都在源源不断地运入宫川果实。可见光合产物是柑橘果实中糖积累的基本来源,糖在进入果实后或被消耗或被积累,而蔗糖代谢相关酶正是在糖的积累和消耗之间起重要调节作用。所以要全面了解柑橘果实中糖积累的机理,就必须对光合产物的运入、蔗糖代谢相关酶的活性变化和糖的代谢消耗进行综合研究。

参考文献:

- 1 Kohler J, Komor E, Thom M, et al. Activity of sucrose-phosphate synthase in sugar cane leaves. *Phytochem.*, 1988, 27: 1605 ~ 1608
- 2 Fieuw S, Willenbrink J. Sucrose synthase and sucrose-phosphate synthase in sugar beet plants (*Beta vulgaris* L. ssp. *altissima*). *J. Plant Physiol.*, 1987, 131: 153 ~ 162
- 3 Dali N, Michaud D, Yelle S. Evidence for the involvement of sucrose-phosphate synthase in the pathway of sugar accumulation in sucrose-accumulating tomato fruits. *Plant Physiol.*, 1992, 99: 434 ~ 438
- 4 Miron D, Schaffer A A. Sucrose phosphate synthase, sucrose synthase, and invertase activities in developing fruit of *Lycopersicon*

- esculentum* Mill. and the sucrose accumulating *Lycopersicon hirsutum* Hub. and Bonpl. *Plant Physiol.*, 1991, 95: 623 ~ 627
- 5 Hubbard N L, Huber S C, Pharr D M. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. *Plant Physiol.*, 1989, 91: 1527 ~ 1534
 - 6 Schaffer A A, Aloni B, Fogelman E. Sucrose metabolism and accumulation in developing fruit of *Cucumis*. *Phytochem.*, 1987, 26: 1883 ~ 1887
 - 7 Beurter J. Sugar accumulation and changes in the activities of related enzymes during development of the apple fruit. *J. Plant Physiol.*, 1985, 121: 331 ~ 341
 - 8 Hawker J S. Changes in the activities concerned with sugar metabolism during the development of grape berries. *Phytochem.*, 1969, 8: 9 ~ 17
 - 9 Hubbard N L, Pharr D M, Huber S C. Role of sucrose-phosphate synthase in sucrose biosynthesis in ripening bananas and its relationship to the respiratory climacteric. *Plant Physiol.*, 1990, 94: 201 ~ 208
 - 10 MacRae E, Quick W P, Benker C, et al. Carbohydrate metabolism during postharvest ripening in kiwifruit. *Planta*, 1992, 188: 314 ~ 323
 - 11 Moriguchi T, Sanada T, Yamaki S. Seasonal fluctuation of some enzymes relating to sucrose and sorbitol metabolism in peach fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1990, 115: 278 ~ 281
 - 12 Komatsu A, Takanokura Y, Moriguchi T, et al. Differential expression of three sucrose-phosphate synthase isoforms during accumulation in citrus fruit (*Citrus unshiu* Marc.). *Plant Sci.*, 1999, 140: 169 ~ 178
 - 13 Lowell C A, Tomlinson P T, Koch K E. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissue and adjacent sink structures in developing citrus fruit. *Plant Physiol.*, 1989, 90: 1394 ~ 1402
 - 14 Helmerhorst E, Stokes GB. Microcentrifuge desalting: A rapid quantitative method for desalting small amount of protein. *Anal. Biochem.*, 1980, 104: 130 ~ 135
 - 15 Hubbard N L, Pharr D M, Huber S C. Sucrose-phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species. *Physiol. Plant*, 1991, 82: 191 ~ 196
 - 16 Vizzotto G, Pinton R, varanini Z, et al. Sucrose accumulation in developing peach fruit. *Physiol. Plant*, 1996, 96: 225 ~ 230

Roles of Sucrose-Metabolizing Enzymes in Accumulation of Sugars in Satsuma Mandarin Fruit

Zhao Zhizhong¹, Zhang Shanglong¹, Xu Changjie^{1,2}, Cheng Kunsong¹, and Liu Shuantao²

(¹Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029; ²Collage of Biological science, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

Abstract : The content of sucrose, glucose, fructose and the activities of sucrose-metabolizing enzymes (acid invertase, neutral invertase, sucrose synthase and sucrose phosphate synthase) in the fruits of *Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa were measured. It was observed that compositive action of sucrose-metabolizing enzymes (net activity of sucrose-metabolizing enzymes) was one of the important factors affecting sugar accumulation in fruit. The transition of sugar accumulation and net activity of sucrose-metabolizing enzymes was the period from the end of fruit enlargement to the onset of fruit coloring in fruits. Before the stage of fruit coloring, the net activity of sucrose-metabolizing enzymes was below zero, sucrose accumulated slowly in fruit. During stage of fruit coloring, the net activity of sucrose-metabolizing enzymes was positive, and sucrose accumulated rapidly in fruit. During the stage of fruit full ripe the net activity of sucrose-metabolizing enzymes was negative in peel tissue, and accumulation of hexoses was higher in comparison with edible tissue.

Key words : Citrus; *Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa; Accumulation of sugars; Invertase; Sucrose synthase; Sucrose phosphate synthase