

叶面施锌对苹果果实中糖代谢相关酶活性的影响

张 勇, 付春霞, 刘 飞, 范晓丹, 闫玉静, 王衍安*, 张友朋

(山东农业大学生命科学学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018)

摘 要: 在不同物候期对 13 年生盛果期‘富士’苹果树进行叶面喷锌处理, 测定果实锌含量、还原糖含量及相关酶活性。结果表明, 喷锌显著提高了果实中的锌含量和成熟期果实中的还原糖含量。萌芽前和花后 3 周喷锌的植株, 幼果发育期(花后 10~80 d)果实山梨醇脱氢酶(SDH)活性显著高于对照; 春梢停长期喷锌的植株, 膨大期(花后 80~160 d)果实中 SDH 的活性显著高于对照; 膨大期喷锌的植株, 成熟期(花后 160~190 d)果实中 SDH 显著高于对照。喷锌对果实中山梨醇氧化酶(SOX)活性无显著影响。萌芽前、花后 3 周喷锌显著提高了幼果发育期果实中蔗糖合酶(SS)分解方向的活性和酸性转化酶(AI)的活性; 果实膨大期处理显著提高了成熟期果实中 AI 的活性, 对中性转化酶(NI)则无显著影响。不同物候期喷锌处理均增加了锌向果实中的富集, 从而提高了果实中山梨醇代谢酶及蔗糖分解酶活性, 有利于蔗糖和山梨醇的快速卸载, 促进了果实中还原糖的积累。

关键词: 苹果; 锌; 还原糖; 山梨醇代谢酶; 蔗糖分解酶

中图分类号: S 661.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 08-1429-08

Effects of Aerial Zinc Application on Carbohydrate Metabolism-related Enzymes Activities in Apple Fruit

ZHANG Yong, FU Chun-xia, LIU Fei, FAN Xiao-dan, YAN Yu-jing, WANG Yan-an*, and ZHANG You-peng

(State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Science, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: Zn was sprayed on thirteen-year-old ‘Fuji’ apple trees at different developmental stages. The effects of Zn on Zn contents of fruits, reducing sugar content and activities of carbohydrate metabolism-related enzymes were investigated. The results showed that the Zn treatments significantly increased the Zn contents and the reducing sugar in fruits at mature stage. The activity of sorbitol dehydrogenase (SDH) was significantly higher in the fruit of apple trees treated prior to bud break and at three weeks after bloom than the control at young fruit stage. The SDH activity of the fruit treated when the spring shoots stopped growth was higher than the control during fruit expansion period. The fruit treated at fruit expanding stage showed higher SDH activity than the control during fruit mature stage. The

收稿日期: 2013-04-01; **修回日期:** 2013-06-14

基金项目: 国家‘863’计划项目(2011AA100703); 国家科技支撑计划项目(2011BAD21B06); 国家现代农业产业技术体系建设资金项目(CARS-28); 国际锌协会合作项目(MD-86)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wyaapple@126.com; Tel: 0538-8249144)

sorbitol oxidase (SOX) activity of all the treatments was not significantly different compared with the control. The Zn treatment did not show significant effects on sorbitol oxidase (SOX) activity of fruits. The Zn treatments before bud break and at three weeks after blooming significantly increased the activities of sucrose synthase (SS) and acid invertase (AI) at young fruit stage. The Zn treatments at fruit expanding stage significantly increased the activity of AI at mature stage, while there were no effects on the activity of neutral invertase (NI). Our results showed Zn treatments enhanced the biofortification of fruit Zn, which resulted in the higher activities of carbohydrate metabolism-related enzymes and the accumulation of sugar in fruits.

Key words: apple; Zn; reducing sugar; sorbitol metabolism enzymes; sucrose lyase

锌是所有生物必需的微量元素之一, 在发展中国家锌营养缺乏已成为疾病和死亡的第五大诱因 (White & Broadley, 2009)。锌作为 300 多种酶的结构功能调节因子 (Andreini & Bertini, 2012), 在植物 DNA 复制转录、蛋白质合成降解、糖类代谢及细胞分裂分化等代谢活动中起着重要作用 (Hacisalihoglu et al., 2003; Broadley et al., 2007)。Jeffery 等 (1984) 研究发现锌是山梨醇脱氢酶的重要辅因子, 王永章等 (2001) 的研究表明在离体条件下锌能提高酸性转化酶 (AI) 的活性。糖代谢需要多种酶协同参与, 研究锌与果实糖代谢相关酶的关系, 适当提高果实中的锌含量, 对提高苹果果实品质、改善人类健康具有重要意义。苹果中同化产物运输以山梨醇和蔗糖形式运输, 其中山梨醇占 80% (Loescher et al., 1982)。山梨醇脱氢酶 (SDH) 和山梨醇氧化酶 (SOX) 是苹果果实山梨醇代谢的主要酶, 其作用是将山梨醇氧化为果糖 (Yamaki & Ishiwaka, 1986; Yamaguchi et al., 1996), 这两种酶活性在果实发育中的变化已有报道 (Yamada et al., 1998; Park et al., 2002), 其中 SDH 的活性在增强果实库力方面起着重要作用 (Nosarszewski et al., 2004)。蔗糖进入果实中需要蔗糖合酶 (SS) 和转化酶作用分解为己糖 (Koch, 2004), SS 和转化酶影响果实的库强进而影响蔗糖代谢 (Hockema & Etxeberria, 2001)。本实验室预备试验表明, 根外施锌可显著提高苹果果实中的可溶性糖含量, 但锌如何调控苹果果实发育进程中糖的代谢, 未见报道。研究苹果果实发育过程中锌与糖积累及其相关酶的关系, 对揭示锌调控果实糖代谢的生理机制有重要意义, 可为通过生物强化补锌措施提高果实品质奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试验设计

以 13 年生正常生长的盛果期富士/平邑甜茶 (*Malus × domestica* Borkh. 'Red Fuji' / *M. hupehensis* Rehd.) 为试材, 于 2012 年在山东肥城潮泉镇苹果园 (116°50'E, 36°14'N) 进行相关研究。

选取生长一致的植株, 在果树不同关键物候期喷施 $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 根据预备试验结果, 设 5 个处理: (1) 萌芽前 (3 月 19 日) 喷施 2% $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; (2) 花后 3 周 (5 月 21 日) 喷施 0.3% $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; (3) 春梢停长期 (7 月 10 日) 喷施 0.3% $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; (4) 果实膨大期 (8 月 17 日) 喷施 0.3% $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 以不喷锌为对照。单株小区, 随机区组分布, 处理间设保护株, 5 次重复。萌芽前喷树干和枝梢至皮层湿润、液体微滴, 每株约 1.5 L。其它时期则喷叶片和新梢, 叶片正反面喷布均匀, 喷到叶面微滴水, 每株约 10 L。第 1 次取样在花后 10 d, 每个重复在树冠中部外围东西方向各取 10 个果实, 以后每 30 d 取 1 次样, 每个重复在树冠中部外围东西方向取样, 每个方向取 4 个果实。

参考束怀瑞等 (1993) 对果实发育期特征的描述, 将果实各个发育期划分如下: 花后 10 ~ 80 d

为幼果期, 花后 80 ~ 160 d 为果实膨大期, 花后 160 ~ 190 d 为果实成熟期。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 锌含量测定

果实切成片低温烘干, 研磨后用于锌元素测定 (Zarcinas et al., 1987)。称果实干样 1.00 g 左右经 $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ 消煮, 提取液过滤后用原子吸收分光光度计 (AAS, 英国 PYE 公司生产的 SP9-400 型) 测定吸光度。

1.2.2 还原性糖含量的测定

取 1.00 g 新鲜果肉研磨成匀浆后, 用 5 mL 蒸馏水分数次冲洗残渣完全转移到 10 mL 离心管, 1 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 收集上清液, 再加入 5 mL 蒸馏水重复离心 1 次, 合并上清液定容至 50 mL, 用 3,5 - 二硝基水杨酸 (DNS) 测定还原糖含量 (赵凯 等, 2008)。

1.2.3 酶液制备及酶活性的测定

酶液的制备: 参考 Keller 和 Ludlow (1993) 的方法并加以改进, 取新鲜果肉 0.50 ~ 1.00 g 冰浴研磨, 分数次共加 10 mL 提取液研磨成匀浆。提取液成分包括: 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HEPES - NaOH (pH 7.5), 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, 2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTT (二硫苏糖醇), 0.05% (体积比) Triton X-100 和 0.1% (质量体积比) BSA (牛血清蛋白)。将匀浆经 4 层冷却的脱脂纱布过滤至 50 mL 离心管中, 2 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 ~ 20 min, 取上清液, 并在低温下 (2 ~ 4 $^{\circ}\text{C}$) 下用其 10 倍体积的稀释 10 倍的提取液 (去除 Triton X-100) 透析 15 ~ 24 h, 透析后的酶液即可用于酶活性的测定。山梨醇脱氢酶 (SDH) 活性参考 Ruffy 和 Huber (1983) 的方法测定; 山梨醇氧化酶 (SOX) 活性参考 Yamaki (1986) 的方法测定; 蔗糖合酶 (SS) 分解方向活性根据 Huber (1983) 的方法测定; 酸性转化酶 (AI) 的活性参考 Merlo (1991) 方法测定; 中性转化酶 (NI) 的活性参考 Merlo 和 Passera (1991) 方法测定。

数据方差、显著性和相关性分析利用 SAS8.2, 其中显著性分析利用 LSD 法, 在 0.01 水平上测试。

2 结果与分析

2.1 喷施锌对果实锌含量变化的影响

表 1 显示, 果实锌含量在整个果实发育期呈先上升后下降趋势, 在花后 70 d 达到最高值, 在幼果发育期升高可能是因为这个时期细胞分裂旺盛, 对锌等矿质营养的竞争力强、吸收量大, 随果实体积增大, 锌含量存在稀释效应而逐渐降低。萌芽前 (03 - 09) 喷锌、花后 3 周 (05 - 21) 喷锌显

表 1 不同时期喷锌对果实发育过程中锌含量的影响

Table 1 The effects of zinc spraying at different development stages on zinc content of fruit ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}\text{DW}$)

处理日期/M - D Treatment date	花后天数 Days after bloom						
	10 d	40 d	70 d	100 d	130 d	160 d	190 d
对照 Control	7.11 b	8.79 b	9.80 c	9.26 b	7.02 ab	3.51 c	1.64 c
03 - 19	7.80 a	9.54 a	10.42 b	9.60 b	7.30 a	4.06 ab	2.83 ab
05 - 21		9.90 a	10.99 a	9.72 b	7.41 a	4.34 a	3.23 a
07 - 10				10.13 a	7.43 a	3.86 b	2.31 b
08 - 17						4.01 ab	2.25 b

注: 表中同列数据后不同小写字母表示差异达 5% 显著水平。下同。

Note: Different small letters in a column mean significantly difference at the 5% level. The same below.

著提高了幼果发育期和成熟期果实中的锌含量, 不同时期喷锌处理在花后 130 d 与对照锌含量差异不显著, 可能是因为此时期果实处于快速膨大, 对锌含量的稀释效应较大。春梢停长期 (07 - 10) 喷锌显著提高了花后 100 d 果实中的锌含量。不同时期喷锌均显著提高了成熟期果实中的锌含量, 以萌芽前 (03 - 09) 和花后 3 周 (05 - 21) 处理锌含量较高。

2.2 喷施锌对果实还原糖含量变化的影响

由表 2 看出, 在果实整个生长期, 喷锌处理与对照的果实还原糖含量均呈逐渐上升趋势。萌芽前 (03 - 09) 喷锌、花后 3 周 (05 - 21) 喷锌的植株, 幼果期果实还原糖含量与对照无明显差异。所有喷锌处理成熟期果实的还原糖含量均显著高于对照, 萌芽前 (03 - 09)、花后 3 周 (05 - 21)、春梢停长期 (07 - 10)、果实膨大期 (08 - 17) 处理的果实还原糖含量较对照分别提高 6.6%、6.8%、6.1%、13.3%。说明在幼果期, 喷锌处理与对照间还原糖含量差异不显著; 随着果实的发育, 喷锌处理与对照间的差异愈来愈明显, 在成熟期差异最大。

表 2 不同时期喷锌的苹果树果实还原糖含量变化

Table 2 The effects of zinc spraying at different development stages reducing sugar of the fruits

处理日期/ M - D Treatment date	花后天数 Days after bloom						
	10 d	40 d	70 d	100 d	130 d	160 d	190 d
对照 Control	9.12 a	17.10 a	25.14 a	40.33 b	58.40 c	76.14 c	82.42 c
03 - 19	9.46 a	18.47 a	26.75 a	43.93 b	65.31 b	84.08 b	90.71 b
05 - 21		19.72 a	28.74 a	45.53 a	65.35 b	85.66 b	90.88 b
07 - 10				48.18 a	71.60 a	85.91 b	90.25 b
08 - 17						91.52 a	96.42 a

2.3 喷施锌对果实山梨醇代谢相关酶活性变化的影响

表 3 显示, 在幼果开始发育时山梨醇脱氢酶 (SDH) 活性较低, 花后 40 d 后迅速上升, 到花后 100 d 略有下降, 花后 160 d 达到最大值, 果实成熟期略有下降。萌芽前 (03 - 09) 和花后 3 周 (05 - 21) 喷锌显著提高了幼果中 SDH 的活性, 但是在膨大期末期及成熟期, 与对照无显著差异。春梢停长期 (07 - 10) 喷锌的植株, 花后 100、130 d 果实中 SDH 活性显著提高, 之后与对照的差异逐减小至不显著。果实膨大期 (08 - 17) 喷锌显著提高了成熟果实的 SDH 活性。果实中山梨醇氧化酶 (SOX) 活性, 在花后 40 d 达到最大值, 随后下降, 花后 70 d 至最低值, 之后略有上升并趋于稳定。喷锌处理对果实 SOX 活性无显著影响。说明喷锌主要通过调节 SDH 的活性影响山梨醇的代谢。

表 3 不同时期喷锌对果实中山梨醇脱氢酶和山梨醇氧化酶活性变化的影响

Table 3 The effects of zinc spraying at different development stages on

酶 Enzyme	处理日期/ M - D Treatment date	SDH and SOX activity of fruit						
		花后天数 Days after bloom						
		10 d	40 d	70 d	100 d	130 d	160 d	190 d
山梨醇脱氢酶 SDH	对照 Control	0.26 b	0.58 c	2.36 b	5.33 b	4.75 b	5.99 b	5.24 b
	03 - 19	0.55 a	0.86 b	2.80 a	5.91 a	4.76 b	6.27 b	5.24 b
	05 - 21		1.20 a	2.86 a	5.97 a	4.88 b	6.19 b	5.23 b
	07 - 10				6.14 a	5.30 a	6.24 b	5.26 b
	08 - 17						6.63 a	5.94 a
山梨醇氧化酶 SOX	对照 Control	1.39 a	2.45 a	0.88 a	1.15 a	1.45 a	1.51 a	1.53 a
	03 - 19	1.49 a	2.45 a	0.96 a	1.17 a	1.45 a	1.54 a	1.53 a
	05 - 21		2.52 a	1.01 a	1.21 a	1.44 a	1.51 a	1.52 a
	07 - 10				1.23 a	1.47 a	1.54 a	1.52 a
	08 - 17						1.58 a	1.54 a

2.4 喷施锌对果实蔗糖合酶(SS)分解方向活性变化的影响

表 4 显示, 在整个果实发育过程中, 果实 SS 的活性呈逐渐下降趋势。在幼果发育期, SS (分解方向) 活性较高, 萌芽前(03-09)、花后 3 周(05-21)喷锌处理果实中 SS 的活性显著高于对照, 其他处理与对照无显著差异。这可能因为果实膨大期和成熟期 SS 分解方向活性较低, 喷锌处理对其作用效果不显著, 而幼果发育期 SS 分解方向处于活跃期, 喷锌处理对其影响较大。

表 4 不同时期喷锌对果实中蔗糖合酶分解方向活性变化的影响

Table 4 The effects of zinc spraying at different development stages

处理日期/M-D Treatment date	SS cleavage activity of fruit (mmol·h ⁻¹ ·g ⁻¹ FW)						
	花后天数 Days after bloom						
	10 d	40 d	70 d	100 d	130 d	160 d	190 d
对照 Control	8.62 b	6.68 b	2.74 c	3.32 a	2.44 a	2.21 a	1.34 a
03-19	9.38 a	7.19 a	2.95 b	3.49 a	2.39 a	2.34 a	1.36 a
05-21		7.40 a	3.21 a	3.49 a	2.56 a	2.38 a	1.53 a
07-10				3.70 a	2.61 a	2.32 a	1.57 a
08-17						2.52 a	1.69 a

2.5 喷施锌对果实蔗糖转化酶活性变化的影响

由表 5 看出, 随着果实的发育, 酸性转化酶(AI)和中性转化酶(NI)活性呈现先升高后降低的趋势, AI 的活性高于 NI。AI 活性在花后 100 d 开始下降, 而 NI 在花后 70 d 开始下降。花后 70 d 前, 萌芽前(03-09)喷锌、花后 3 周(05-21)喷锌的果实 AI 活性显著高于对照。而春梢停长期喷锌(07-10)对 AI 的活性无显著影响。在果实成熟期, 果实膨大期喷锌(08-17)的果实 AI 显著高于对照。喷锌对果实中 NI 的活性无显著影响。

上述结果说明 Zn 主要通过调节 AI 的活性影响果实中蔗糖的转化。

表 5 不同时期喷锌对果实中酸性转化酶和中性转化酶变化的影响

Table 5 The effects of zinc spraying at different development stages

酶 Enzyme	处理日期/M-D Treatment date	AI and NI activity of fruit (mmol·h ⁻¹ ·g ⁻¹ FW)						
		花后天数 Days after bloom						
		10 d	40 d	70 d	100 d	130 d	160 d	190 d
酸性转化酶 AI	对照 Control	8.13 b	9.18 b	11.69 b	13.35 a	9.14 a	8.06 b	8.29 b
	03-19	8.81 a	9.82 a	12.66 a	13.63 a	9.14 a	8.10 b	8.55 b
	05-21		10.01 a	13.01 a	13.79 a	9.15 a	8.25 b	8.59 b
	07-10				14.01 a	9.39 a	8.30 b	8.60 b
	08-17						8.73 a	9.13 a
中性转化酶 NI	对照 Control	6.21 a	6.91 a	9.66 a	9.49 a	6.63 a	5.61 a	5.23 a
	03-19	6.46 a	7.09 a	9.75 a	9.39 a	6.47 a	5.77 a	5.37 a
	05-21		7.14 a	10.06 a	9.41 a	6.43 a	5.68 a	5.37 a
	07-10				9.43 a	6.56 a	5.82 a	5.29 a
	08-17						5.90 a	5.53 a

2.6 果实中锌含量、还原糖含量及相关酶活性的相关性

果实发育过程中锌与还原糖、还原糖与相关酶的相关性分析结果(表 6)表明, 在花后 40、70、100、190 d 时锌与 SDH 具有显著相关性; 在整个发育期内, 锌与 SOX 的无显著相关性; 花后 10、70、100 d 锌与 SS 具有显著相关性; 花后 10、40、70、160、190 d 锌与 AI 具有极显著或显著相关性; 花后 10、40、70 d 锌与 NI 具有显著相关性。在幼果发育期锌与 SDH、SS、AI、NI 的相关性

较高, 在果实成熟期锌与 SDH、AI 的相关性较高。花后 40、90 d 还原糖与 SDH 呈显著相关性, 还原糖与 SOX 无显著相关性, 在花后 100 d 还原糖与 SS 具有显著相关性, 花后 40 d 及花后 160 d、190 d 还原糖与 AI 具有显著相关性, 花后 10、70 d 还原糖与 NI 呈显著相关性。由于糖代谢在空间和时间上的复杂性, 所以还原糖与相关酶的相关性无明显规律。

表 6 花后不同时间锌与相关酶活性、还原糖与相关酶活性的相关系数
Table 6 Correlation coefficient between Zn and related enzymes, reducing sugar and related enzymes in different time after bloom

项目 Item	指标 Index	花后天数 Days after bloom						
		10 d	40 d	70 d	100 d	130 d	160 d	190 d
Zn	SDH	0.40	0.67*	0.72*	0.63*	0.52	0.48	0.58*
	SOX	0.36	0.45	0.68	0.44	0.55	0.33	0.29
	SS	0.67*	0.56	0.75*	0.67*	0.50	0.18	0.18
	AI	0.89**	0.93**	0.76*	0.16	0.09	0.65*	0.62*
	NI	0.68*	0.73*	0.77*	0.21	0.03	0.40	0.16
还原糖 Reducing sugar	SDH	0.30	0.68*	0.57	0.53	0.34	0.50	0.62*
	SOX	0.28	0.16	0.53	0.28	0.33	0.28	0.27
	SS	0.24	0.52	0.52	0.72*	0.37	0.37	0.36
	AI	0.48	0.84*	0.59	0.49	0.56	0.64*	0.78*
	NI	0.73*	0.60	0.82*	0.12	0.05	0.15	0.31

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3 讨论

苹果光合同化产物以蔗糖和山梨醇的形式运输到果实中, 其中以山梨醇为主。蔗糖与山梨醇运输到果实中经过 AI、NI、SS、SDH、SOX 等作用形成果糖和葡萄糖两种还原性的糖 (Loescher et al., 1982; Berüter et al., 1997)。富士苹果果实以果糖积累最多, 葡萄糖、蔗糖次之, 其中果糖甜度最大, 在一定程度上决定了苹果的风味 (魏建梅 等, 2009)。本试验中不同时期喷锌均显著提高了成熟果实中还原糖含量, 有利于果实风味的提高, 其中果实膨大期 (08 - 17) 喷锌对还原糖含量提高效果最为显著。在幼果发育期果实中, 喷锌处理的还原糖的含量与对照中还原糖含量无显著差异, 主要与该时期果实中被卸载的果糖和葡萄糖参与合成代谢、用于自身结构的建成有关 (Koch, 2004)。

SDH 是一种以锌离子作为辅因子的脱氢酶 (Jeffery et al., 1984)。山梨醇被运到果实中, 在 SDH 的作用下转化为果糖被贮存或参与其它代谢 (Nosarszewski et al., 2004)。本试验中, 喷锌显著提高了 SDH 的活性, 促进了山梨醇的卸载。不同物候期喷锌对 SOX 活性则无显著影响, 可能是因为苹果果实中 SOX 活性较其它酶低, 80% 以上为束缚型, 总活性仅为 SDH 的 1/5 (Chong, 1971)。

蔗糖运到果实中在 SS、AI 及 NI 的催化下分解为果糖和葡萄糖, 促使果实与韧皮部形成蔗糖浓度差, 驱动组织韧皮部蔗糖的卸载 (Wind et al., 2010)。SS 分解方向在幼果发育期具有较高活性, 成熟期处于较低水平 (李培环 等, 2002)。萌芽前和花后 3 周喷锌显著提高了 SS 分解方向的活性, 其它处理与对照无显著差异, 可能因为 SS 在幼果期活性较高, 分解产生较多的尿苷二磷酸葡萄糖 (UDPG) 用于细胞生命基础物质的合成, 在成熟期基本不需要 UDPG, 因而 SS 分解方向的活性较低, 喷锌对其影响较小。Zn 对 AI 的活性有促进作用 (王永章 等, 2001), 有利于维护其活性部位。本试验中, 喷锌处理显著提高了 AI 的活性, 对 NI 无显著影响。

果实中 SDH、SOX、SS、AI、NI 等糖代谢酶的活性与果实的库力密切相关 (张永平 等, 2008), 其中 SDH、SS 和 AI 的活性在很大程度上决定了果实的库力 (Nosarszewski et al., 2004; Zhou et al., 2006)。锌与 SDH、SS (分解方向)、AI 具有较高的相关性, 而这几种酶催化山梨醇和蔗糖转化为

果糖、葡萄糖两种还原性糖。所以不同物候期喷锌通过提高果实中锌含量, 进而提高了 SDH、SS 和 AI 的活性, 果实的库力增强, 有利于糖的卸载与积累。

锌直接参与吲哚乙酸 (IAA) 和赤霉素 (GA_3) 的生物合成 (Cakmak et al., 1989; Sekimoto et al., 1997), IAA 和 GA 都可以提高果实的库力 (Liu et al., 1983; Iqbal et al., 2011)。 GA_3 可以促进 SOX 活性的提高, SDH 活性可以显著被 IAA 激活 (单守明 等, 2005)。IAA 还可以提高山梨醇主动进入库细胞的能力 (张永平等, 2008)。本试验中锌可能通过提高果实中 IAA 和 GA 来提高果实的库力, 增加果实中的果糖和葡萄糖总量。

综上, 萌芽前、花后 3 周、春梢停长期、果实膨大期 4 个关键物候期根外施锌均对果实中糖积累和锌的富集有促进作用; 4 个时期处理显著提高了 SDH 的活性; 萌芽前、花后 3 周处理显著提高了 SS 分解方向的活性; 萌芽前、花后 3 周、果实膨大期喷锌显著提高了 AI 的活性, 但是随着时间延长, 效果会趋于减弱。

References

- Andreini C, Bertini I. 2012. A bioinformatics view of zinc enzymes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 111: 150 - 156.
- Berüter J, Feusi M E S, Rüedi P. 1997. Sorbitol and sucrose partitioning in the growing apple fruit. *Journal of Plant Physiology*, 151: 269 - 276.
- Cakmak I, Marschner H, Bangerth F. 1989. Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Experimental Botany*, 40 (3): 405 - 412.
- Chong C. 1971. Study of the seasonal and daily distribution of sorbitol and related carbohydrates within apple seedlings by analysis of selected tissues and organs. *Canadian Journal of Plant Science*, 51: 519 - 525.
- Hacisalihoglu G, Hart J J, Wang Y H, Cakmak I, Kochian, L V. 2003. Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of zinc-requiring enzymes in wheat. *Plant Physiology*, 131: 595 - 602.
- Hockema B R, Etxeberria E. 2001. Metabolic contributors to drought-enhanced accumulation of sugars and acids in oranges. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126: 599 - 605.
- Huber S C. 1983. Role of sucrose-phosphate synthase in partitioning of carbon in leaves. *Plant Physiology*, 71: 818 - 821.
- Iqbal N, Nazar R, Khan M I R, Masood A, Khan N A. 2011. Role of gibberellins in regulation of source-sink relations under optimal and limiting environmental conditions. *Current Science (Bangalore)*, 100 (7): 998 - 1007.
- Jeffery J, Chesters J, Mills C, Sadler P J, Jornvall H. 1984. Sorbitol dehydrogenase is a zinc enzyme. *The European Molecular Biology Organization Journal*, 3: 357 - 360.
- Keller F, Ludlow M M. 1993. Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Journal of Experimental Botany*, 265: 1351 - 1359.
- Koch K. 2004. Sucrose metabolism: Regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 235 - 246.
- Li Pei-huan, Dong Xiao-ying, Wang Yong-zhang, Liu Lian-cheng, Yuan Yong-bing, Li Peng. 2002. Activity and subcellular localization of sucrose synthase in 'Starkrimson' apple during fruit development. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (4): 375 - 377. (in Chinese)
- 李培环, 董晓颖, 王永章, 刘成连, 原永兵, 李 鹏. 2002. '新红星' 苹果果实蔗糖合酶的活性及亚细胞定位. *园艺学报*, 29 (4): 375 - 377.
- Liu J R, Sink K C, Dennis F G. 1983. Plant regeneration from apple seedling explants and callus cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2 (4): 293 - 304.
- Loescher W H, Marlow G C, Kennedy R A. 1982. Sorbitol metabolism and sink-source interconversions in developing apple leaves. *Plant Physiology*, 70: 335 - 339.
- Merlo L, Passera C. 1991. Changes in carbohydrate and enzyme levels during development of leaves of *Prunus persica*, a sorbitol synthesizing species. *Plant Physiol*, 83: 621 - 626.
- Nosarszewski M, Clements A M, Downie A B, Archbold D D. 2004. Sorbitol dehydrogenase expression and activity during apple fruit set and early

- development. *Physiologia Plantarum*, 121: 391 - 398.
- Park S W, Song K J, Kim M Y, Hwang J H, Shin Y U, Kim W C, Chung W. 2002. Molecular cloning and characterization of four cDNAs encoding the isoforms of NAD-dependent sorbitol dehydrogenase from the Fuji apple. *Plant Science*, 162: 513 - 519.
- Rufly T W, Huber S C. 1983. Changes in starch formation and activities of sucrose phosphate synthase and cytoplasmic fructose-1,6-bisphosphatase in response to source-sink alteration. *Plant Physiology*, 72: 474 - 478.
- Sekimoto H, Hoshi M, Nomura T, Yokota T. 1997. Zinc deficiency affects the levels of endogenous gibberellins in *Zea mays* L. *Plant Cell Physiology*, 38 (9): 1087 - 1090.
- Shan Shou-ming, Wang Yong-zhang, Dong Xiao-ying, Liu Cheng-lian, Yuan Yong-bing. 2005. Effects of IAA, GA and ABA on activities of related enzymes of sorbitol metabolism in developing apple fruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (6): 990 - 993. (in Chinese)
单守明, 王永章, 董晓颖, 刘成连, 原永兵. 2005. IAA、GA 和 ABA 对苹果果实山梨醇代谢相关酶活性的影响. *园艺学报*, 32 (6): 990 - 993.
- Shu Huai-rui, Luo Xin-shu, Wu Guang-lin, Zhou En, Li Zheng-zhi, Gu Man-ru. 1993. *Fruit cultivated physiology*. Beijing: Agriculture Press: 163 - 174. (in Chinese)
束怀瑞, 罗新书, 吴光林, 周恩, 李正之, 顾曼如. 1993. *果树栽培生理学*. 北京: 农业出版社: 163 - 174.
- Wang Yong-zhang, Wang Xiao-fang, Zhang Da-peng. 2001. Study of invertase in apple fruit. *Journal of China Agricultural University*, 6 (5): 9 - 14. (in Chinese)
王永章, 王小芳, 张大鹏. 2001. 苹果果实转化酶的种类和特性研究. *中国农业大学学报*, 6 (5): 9 - 14.
- Wei Jian-mei, Qi Xiu-dong, Zhu Xiang-qiu, Ma Feng-wang. 2009. Relationship between the characteristics of sugar accumulation and fruit quality in apple (*Malus domestica* Borkh.) fruit. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 29 (6): 1193 - 1199. (in Chinese)
魏建梅, 齐秀东, 朱向秋, 马锋旺. 2009. 苹果果实糖积累特性与品质形成的关系. *西北植物学报*, 29 (6): 1193 - 1199.
- White P J, Broadley M R. 2009. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol*, 182: 49 - 84.
- Wind J, Smeekens S, Hanson J. 2010. Sucrose: Metabolite and signaling molecule. *Phytochemistry*, 71: 1610 - 1614.
- Yamada K, Oura Y, Mori H, Yamaki S. 1998. Cloning of nad-dependent sorbitol dehydrogenase from apple fruit and gene expression. *Plant and Cell Physiology*, 39: 1375 - 1379.
- Yamaguchi H, Kanayama Y, Soejima J, Yamaki S. 1996. Changes in the amounts of the nad-dependent sorbitol dehydrogenase and its involvement in the development of apple fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121: 848 - 852.
- Yamaki S, Ishikawa K. 1986. Role of four sorbitol related enzymes and invertase in the seasonal alteration of sugar metabolism in apple tissue. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 111: 134 - 137.
- Zarcinas B A, Cartwright B, Spouncer L R. 1987. Nitric acid digestion and multi-element analysis of plant material by inductively coupled plasma spectrometry. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 18: 131 - 146.
- Zhang Yong-ping, Qiao Yong-xu, Yu Jing-quan, Zhao Zhi-zhong. 2008. Progress of researches of sugar accumulation mechanism of horticultural plant fruits. *Scientia Agricultura Sinica*, 41 (4): 1151 - 1157. (in Chinese)
张永平, 乔永旭, 喻景权, 赵智中. 2008. 园艺植物果实糖积累的研究进展. *中国农业科学*, 41 (4): 1151 - 1157.
- Zhao Kai, Xue Peng-ju, Gu Guang-ye. 2008. Study on determination of reducing sugar content using 3,5-dinitrosalicylic acid method. *Food Science*, 29 (8): 534 - 536. (in Chinese)
赵凯, 许鹏举, 谷广焯. 2008. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究. *食品科学*, 29 (8): 534 - 536.
- Zhou R, Cheng L, Dandekar A M. 2006. Down-regulation of sorbitol dehydrogenase and up-regulation of sucrose synthase in shoot tips of the transgenic apple trees with decreased sorbitol synthesis. *Journal of Experimental Botany*, 57: 3647 - 3657.