

嫁接对薄皮甜瓜果皮和果肉中乙酸己酯合成途径的影响

齐红岩*, 李金燃, 关小川

沈阳农业大学园艺学院, 辽宁省设施园艺重点实验室, 设施园艺省部共建教育部重点实验室, 沈阳 110866

摘要:以薄皮甜瓜‘玉美人’为接穗, 进行嫁接栽培, 结果表明: 嫁接降低了花后30 d和35 d果皮中乙酸己酯含量, 对果肉中无显著影响。在花后30 d果皮和果肉组织中分别添加乙酸己酯合成的不同阶段前体, 进行芳香物质的测定表明, 嫁接主要降低了甜瓜果皮中己酸向乙酸己酯的转化, 而对醛和醇向酯的转化没有影响; 果肉中3种前体向乙酸己酯的转化均未受嫁接影响。嫁接降低了花后35 d甜瓜果皮中脂氧合酶(LOX)、醇脱氢酶(ADH)和醇酰基转移酶(AAT)的活性, 对两个时期果肉中相关酶活性影响不同。

关键词: 嫁接; 薄皮甜瓜; 乙酸己酯; 酶活性

Effects of Grafting on Hexyl Acetate Biosynthetic Pathway in Peel and Flesh Tissues of Oriental Sweet Melon

QI Hong-Yan*, LI Jin-Ran, GUAN Xiao-Chuan

Key Laboratory of Protected Horticulture, Ministry of Education, Key Laboratory of Protected Horticulture of Liaoning Province, College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China

Abstract: The oriental sweet melon ‘Yumeiren’ was used as scion for graft cultivation. The results showed that grafting decreased the hexyl acetate content in peel tissue, and which was not affected in flesh tissue at 30th and 35th day after anthesis. The different stages of synthetic precursors were added to peel and flesh tissues at 30th day after anthesis respectively. Determination of aromatic compounds showed that grafting mainly decreased the transformation from hexanoate into hexyl acetate in peel tissue, while the transformations from aldehyde and alcohol into esters were unaffected. The transformations from three precursors into hexyl acetate were not affected in flesh tissue. Grafting decreased lipoygenase (LOX), alcohol dehydrogenase (ADH) and alcohol acetyltransferase (AAT) activities in peel tissues of melon since 35th day after anthesis, and the enzymes showed different activities at 30th and 35th day in flesh tissues.

Key words: grafting; oriental sweet melon; hexyl acetate; enzyme activities

薄皮甜瓜俗称“香瓜”, 芳香物质是其果实中最具有价值的部分, 其组成和含量是衡量甜瓜品质的指标之一。甜瓜果实中的芳香物质除了醇类、醛类和含硫化合物以外, 主要是酯类物质(王建华和王汉忠1996; Aubert和Pitrat 2006; 唐贵敏等2007)。果实中酯类的直链酯类物质主要由脂肪酸途径形成, 脂肪酸在 β -氧化和脂氧合酶(LOX)、裂解酶的作用下氧化形成醛类, 醛类在醇脱氢酶(ADH)的催化下形成醇类(Manriquez等2006), 再经醇酰基转移酶(AAT)的催化下形成酯类物质(Zhu等2008)。成熟甜瓜果实香气成分中乙酸酯类占香气总量的80%以上(张东晓2002; 刘圆等2008)。影响酯类合成的因素很多, 嫁接便是其中之一。前期的研究表明, 嫁接降低了薄皮甜瓜果实中香气物质的总量和特征性酯类物质的相对含量(齐红岩等2008)。

乙酸己酯是薄皮甜瓜果实中主要直链酯类物质之一(刘圆等2008; 王宝驹等2008), 且乙酸己酯与其甜度呈显著正相关(刘勇等2009)。但嫁接对甜瓜果实中乙酸己酯以及该酯合成途径中关键步骤的影响, 迄今还尚不明确。本文以组织圆片中添加乙酸己酯合成途径的不同阶段前体, 探讨嫁接对甜瓜乙酸己酯合成途径中某些步骤的影响。

材料与方法

试验于2009年2~6月在本校园艺科研基地日

收稿 2010-01-06 修定 2010-03-22

资助 国家自然科学基金(30972000)、辽宁省自然科学基金(20062112)和辽宁省教育厅创新团队项目(2007T160)。

* 通讯作者(E-mail: hyqiaaa@126.com; Tel: 024-88487166)。

光温室内进行。薄皮甜瓜(*Cucumis melo* L. var. *makuwa* Makino)‘玉美人’作接穗,白籽南瓜 [*Cucurbita moschata* (Duch. ex Lom.) Duck. ex Poiret] ‘圣砧一号’为砧木。2009年2月13日播种甜瓜,基质育苗,甜瓜长至两叶一心时与白籽南瓜进行靠接,以自根作为对照,嫁接作处理,定植于日光温室的栽培桶中。株距60 cm,行距80 cm。栽培过程中采用单蔓整枝方式,在主干10节以上部位连续留瓜,每株留瓜2~3个,雌花开放当日上午用沈农丰产剂2号(沈阳农业大学生产)喷花,并挂牌标记。

由前期试验得出,该品种薄皮甜瓜花后30 d是香气物质形成的高峰期,而35 d是果实成熟期,因此,本实验取开花后30 d和35 d的嫁接和自根甜瓜果实,用固相微萃取-气相色谱法(SPME-GC)分析乙酸己酯的含量(吴继红等2005)。取甜瓜成熟前期(花后30 d)的果实进行组织圆片试验,圆片制作方法和培养过程参照 Flores 等(2002)的方法,略有修改。在50 mL 磷酸钠缓冲液($0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH5.8)中分别加入乙酸己酯合成的各种前体:己醇($10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 直接前体)、己醛($10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 可进一步转化为己醇)和己酸($10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 上游底物,可转化为己醛),以不添加任何外源前体的组织圆片为对照。密封瓶口,放于恒温震荡培养箱中($25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $120 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),温育24 h,间隔3、6、10和24 h分别取25 mL 缓冲液,保存在 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,每个处理重复3次。

分析芳香物质时,解冻后的样品吸取10 mL放入20 mL 顶空瓶中,添加2 g NaCl(分析纯)和内标1-辛醇,加盖并压好,振荡促其溶解。将老化好的萃取头插入样品瓶的顶空部分,推出纤维头,与液面保持0.5 cm的距离,在 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下萃取30 min,然后拔出纤维头,进VARIAN CP-3800气相色谱仪作定量分析。色谱条件为CP Sil 8 CB的柱子,进样口温度 $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$,不分流进样,程序升温, $36 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持2 min, $12 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升到 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$,然后以 $6 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升到 $140 \text{ }^{\circ}\text{C}$,再以 $20 \text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升到 $240 \text{ }^{\circ}\text{C}$,保持8 min,检测器的温度为 $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$,柱流速为 $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

取甜瓜花后30 d和35 d的果实,测定脂氧合酶(LOX)、醇脱氢酶(ADH)和醇酰基转移酶(AAT)的活性。LOX活性的测定参考陈昆松等(2003)文中的方法,稍加改动;ADH活性的测定参照

Longhurst 等(1990)文中的方法,稍加改动;AAT活性的测定参照 Pérez 等(1993)文中的方法,稍加改进。蛋白质含量用考马斯亮蓝G-250比色法测定(郝建军和刘延吉2001)。数据用DPS数据处理软件进行统计分析。

结果与讨论

1 嫁接对薄皮甜瓜果皮和果肉中乙酸己酯含量的影响

从表1可知,花后30 d,自根和嫁接甜瓜果肉中乙酸己酯的含量差异不显著,而自根甜瓜果皮中乙酸己酯含量极显著高于嫁接甜瓜果皮。随着果实逐渐成熟,甜瓜果皮和果肉中乙酸己酯均有不同程度积累,至花后35 d,自根甜瓜果皮中乙酸己酯含量显著高于嫁接甜瓜果皮,而果肉中乙酸己酯含量,两者差异不显著,两个时期甜瓜乙酸己酯含量均是果皮中高于果肉。

表1 嫁接对花后30 d和35 d薄皮甜瓜果皮和果肉中乙酸己酯含量的影响

Table 1 Effect of grafting on hexyl acetate contents in peel and flesh tissues of oriental melon at 30th and 35th day after anthesis

花后时间/d	乙酸己酯含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$			
	自根-果肉	嫁接-果肉	自根-果皮	嫁接-果皮
30	16.59 ^{Bb}	16.90 ^{Bb}	27.34 ^{Aa}	18.57 ^{Bb}
35	18.50 ^{Bc}	17.24 ^{Bc}	34.44 ^{Aa}	29.33 ^{Ab}

表中同行数字旁不同大、小写字母分别表示处理间差异达1%和5%差异显著水平。

2 嫁接对甜瓜果皮和果肉中乙酸己酯合成途径的影响

添加己酸的果皮缓冲体系中,己酸的含量在6 h前逐渐增加,随后降低,己酸转化合成乙酸己酯的含量随培养时间的延长而升高(图1-a),至培养24 h,果皮中乙酸己酯合成量达 $585.73 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而由图1-b可知,嫁接降低了己酸向乙酸己酯的转化率,在培养24 h后乙酸己酯含量显著低于自根的。添加己醛的处理中,己醛含量在3 h最高,之后逐渐降低,而乙酸己酯含量不断升高,嫁接和自根甜瓜在培养24 h后乙酸己酯合成量差异不显著(图1-c、d)。

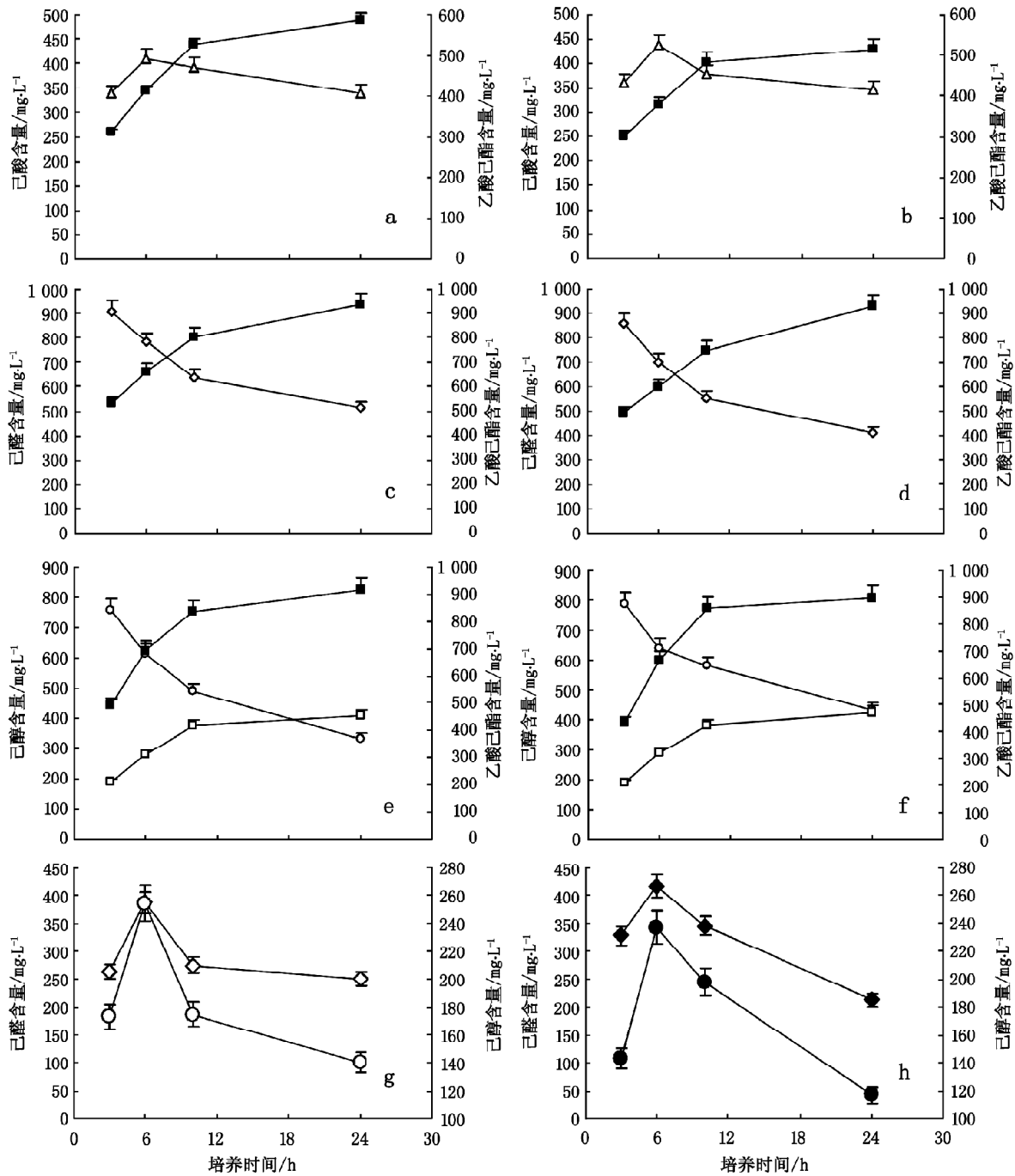


图1 添加不同合成前体的甜瓜果皮圆片在24 h培养过程中合成直链芳香物质的动态变化

Fig.1 Dynamic changes of various precursors of the straight-chain aromas formation by oriental melon peel discs incubated for 24 h

a、c、e、g 代表自根果实; b、d、f、h 代表嫁接果实。a 和 b 代表己酸(Δ)转化成乙酸己酯(■); c 和 d 代表己醛(◇)转化成乙酸己酯(■); e 和 f 代表己醇(○)转化成乙酸己酯(■), 其中(□)表示对照中乙酸己酯的含量。g 和 h 代表己酸向己醛(◇)和己醇(○)的转化。

在添加己醇的CK果皮中, 己醇含量随培养时间的延长逐渐降低, 同时乙酸己酯含量不断积累, 在10 h前快速升高, 10~24 h增加缓慢, 且乙酸己酯含量

极显著高于未添加任何前体的CK₀(图1-e)。添加己醇的嫁接果皮中己醇和乙酸己酯含量与自根果皮趋势一致, 且两者乙酸己酯含量差异不显著(图1-

f)。

可见, 在乙酸己酯合成途径上, 嫁接主要降低了甜瓜果皮中己酸向乙酸己酯的转化, 而已醛向己醇、己醇向乙酸己酯的转化未受嫁接影响。而由

图 1-g、h 中进一步分析得出, 己酸向己醛的转化未受嫁接影响, 而是进一步向己醇的转化受到了抑制, 因而导致乙酸己酯含量的降低。

图 2 显示, 在果肉的缓冲体系中, 添加己酸、

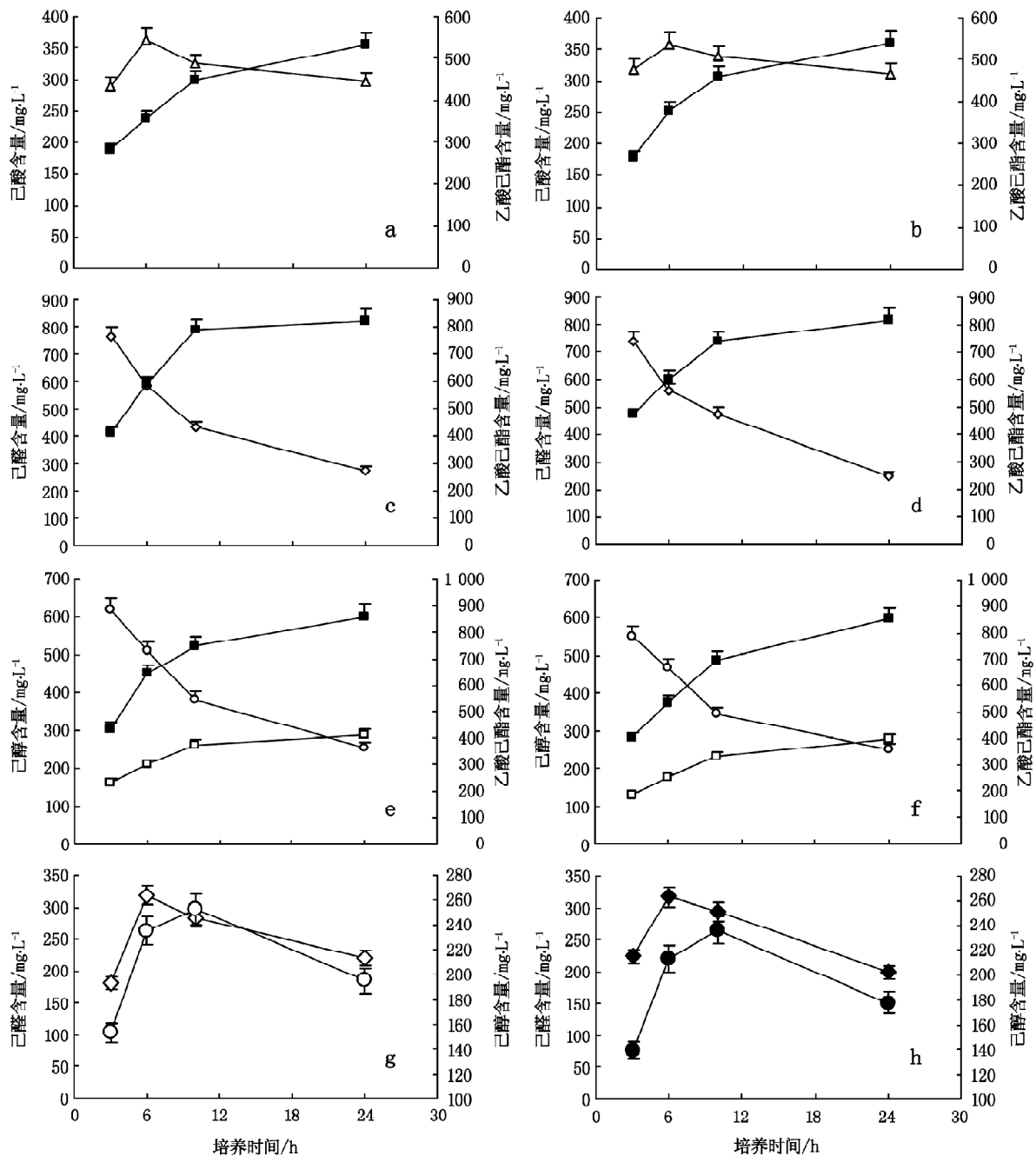


图 2 添加不同合成前体的甜瓜果肉圆片在 24 h 培养过程中合成直链芳香物质的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of various precursors of the straight-chain aromas formation by oriental melon flesh discs incubated for 24 h
a、c、e、g 代表自根果实; b、d、f、h 代表嫁接果实。a 和 b 代表己酸(Δ)转化成乙酸己酯(\blacksquare); c 和 d 代表己醛(\diamond)转化成乙酸己酯(\blacksquare); e 和 f 代表己醇(\circ)转化成乙酸己酯(\blacksquare), 其中(\square)表示对照中乙酸己酯的含量。g 和 h 代表己酸向己醛(\diamond)和己醇(\circ)的转化。

己醛和己醇后,三者向乙酸己酯转化的趋势与果皮的趋势相同,差异在于果肉中乙酸己酯转化能力低于果皮。添加己酸的缓冲体系中,在培养24 h后,嫁接和自根甜瓜果肉合成乙酸己酯含量差异不显著(图2-a、b)。添加己醛的处理中,在培养24 h后,乙酸己酯的合成量,嫁接和自根甜瓜果肉无显著性差异(图2-c、d)。添加己醇的果肉缓冲体系,乙酸己酯含量极显著高于未添加任何前体的CK₀,而嫁接和自根甜瓜合成乙酸己酯含量差异也不显著(图2-e、f)。从图2-g、h中也可看出,添加己酸后,向醛的转化未受嫁接影响,由己醛向己醇的转化有所降低。

可见,在乙酸己酯合成途径上,甜瓜果肉中己酸向己醛、己醛向己醇以及己醇向乙酸己酯的转化均未受嫁接影响。李大鹏(2005)的研究指出,添加各种外源醇可以促进苹果组织圆片中相应酯类的合成。本研究表明,外源添加己酸、己醛和己醇均可促进甜瓜组织圆片中乙酸己酯的合成,且外源前体向乙酸己酯的转化能力,表现为己醛>己醇>己酸。

Flores等(2002)对网纹甜瓜的研究表明,酰基的转化活性依赖于乙烯,乙烯抑制了酸向醛和醛向醇的转化,但对醇向酯的转化没有影响。在乙酸己酯合成途径中,嫁接对甜瓜果皮中己酸向己醛的转化无明显影响,而是降低了进一步向醇的转化,进而降低了向乙酸己酯的转化,而已醛和己醇向乙酸己酯的转化未受影响,这可能与嫁接甜瓜果实乙烯的释放量低有关。本实验室研究表明,嫁接甜瓜果实花后30 d至33 d乙烯释放量显著低于自根甜瓜,并且嫁接使乙烯释放高峰延后了2 d(齐红岩等2010)。根据外源3种前体向乙酸己酯转化率的高低,在实际生产中,可以对甜瓜果实进行外源喷施酯类合成的间接前体——醛类物质来提高甜瓜果实芳香物质的含量,改善其品质,其具体的施用浓度还有待于进一步研究。另外,本文只研究了嫁接对薄皮甜瓜果皮和果肉中乙酸己酯合成途径的影响,对其他酯类及合成途径的影响也有待于进一步研究。

3 嫁接对薄皮甜瓜果皮和果肉中LOX、ADH和AAT活性的影响

如图3所示,在花后30 d,嫁接和自根甜瓜果肉中LOX、ADH和AAT活性差异均不显著。在

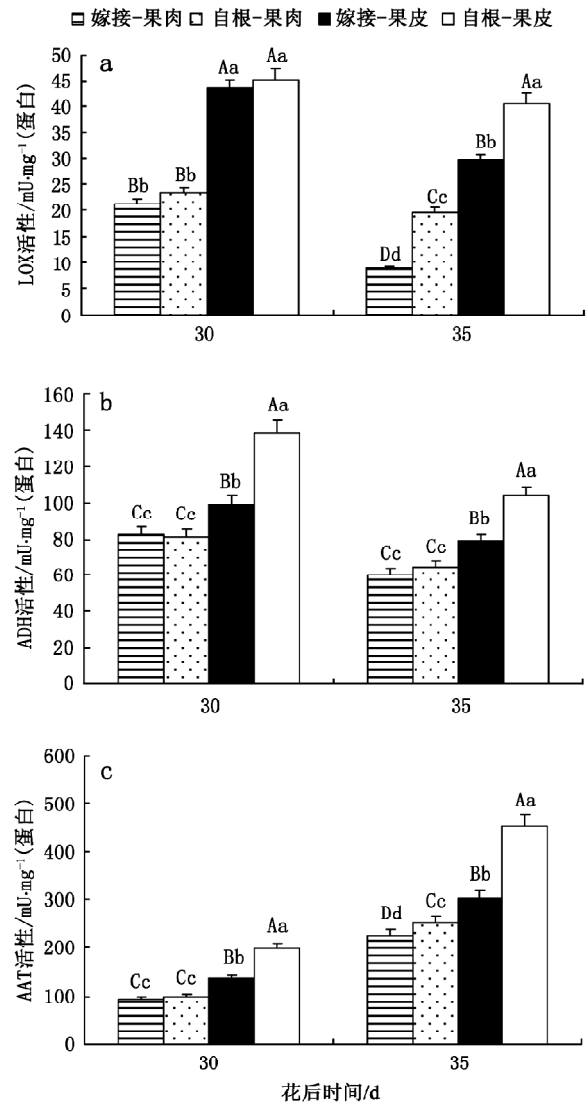


图3 嫁接对薄皮甜瓜果皮和果肉中LOX、ADH和AAT活性的影响

Fig.3 Effects of grafting on LOX, ADH and AAT activities in peel and flesh tissues of oriental melon

果皮中,嫁接甜瓜ADH和AAT的活性极显著低于自根甜瓜(图3-b、c),势必影响醛类向醇类的转化,从而影响酯类的合成,这是嫁接影响组织圆片中酯类合成的主要原因之一;而两者LOX活性无显著性差异(图3-a)。随着果实的逐渐成熟至花后35 d,嫁接和自根甜瓜果皮和果肉中LOX和AAT的活性均达到了极显著差异,而ADH的活性,在果皮中嫁接甜瓜极显著低于自根甜瓜,在果肉中两者差异不显著。薄皮甜瓜果皮中3种酶的活性均极显著高于果肉。成熟甜瓜果实LOX和ADH的活性低于

花后 30 d 的甜瓜果实, 而 AAT 的活性高于花后 30 d 的甜瓜果实。

参考文献

- 陈昆松, 徐昌杰, 许文平, 吴敏, 张上隆(2003). 猕猴桃和桃果实脂氧合酶活性测定方法的建立. 果树学报, 20 (6): 436~438
- 郝建军, 刘延吉(2001). 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 9~11
- 李大鹏(2005). 苹果醇酰基转移酶基因 *MdAAT2* 参与酯类香气合成调控机理的研究. 泰安: 山东农业大学[博士论文]
- 刘勇, 齐红岩, 王博, 张多娇, 衣宁宁(2009). 不同类群薄皮甜瓜感官检验与主要风味物质的关系. 西北农业学报, 18 (4): 355~358
- 刘圆, 齐红岩, 王宝驹, 郭亮, 苏欣(2008). 不同品种甜瓜果实成熟过程中香气物质动态分析. 华北农学报, 23 (2): 49~54
- 齐红岩, 邱丽妍, 滕录华, 周春旭(2010). 嫁接对薄皮甜瓜果实成熟期及其相关品质的影响. 中国农学通报, 1 (2): 184~188
- 齐红岩, 魏敏, 刘圆, 王宝驹(2008). 嫁接对薄皮甜瓜果实香气物质影响的初步研究. 中国蔬菜, (2): 21~24
- 唐贵敏, 于喜艳, 赵登超, 王利平(2007). 不同品种厚皮甜瓜果实成熟过程中挥发性物质成分分析. 中国蔬菜, (4): 7~11
- 王宝驹, 齐红岩, 刘圆, 王佳辉(2008). 薄皮甜瓜果实不同部位中的挥发性酯类物质与氨基酸的关系. 植物生理学通讯, 44 (2): 215~220
- 王建华, 王汉忠(1996). 果蔬芳香物质的研究方法. 山东农业大学学报, 27 (2): 219~226
- 吴继红, 张美莉, 陈芳, 廖小军, 胡小松(2005). 固相微萃取 GC-MS 法测定苹果不同品种中主要芳香成分的研究. 分析测试学报, 24 (4): 101~104
- 张东晓(2002). 日本关于厚皮甜瓜若干品种香气成分的研究. 中国西瓜甜瓜, (2): 45~46
- Aubert C, Pitrat M (2006). Volatile compounds in the skin and pulp of Queen Anne's pocket melon. J Agric Food Chem, 54: 8177~8182
- Flores F, El Yahyaoui F, de Billerbeck G, Romojaro F, Latche A, Bouzayen M, Pech J-C, Ambid C (2002). Role of ethylene in the biosynthetic pathway of aliphatic ester aroma volatiles in Charentais Cantaloupe melons. J Exp Bot, 53 (367): 201~206
- Longhurst TJ, Tung JF, Brady CJ (1990). Developmental regulation of the expression of alcohol dehydrogenase in ripening tomato fruit. J Food Biochem, 14: 421~423
- Manriquez D, El-Sharkawy I, Flores FB, El-Yahyaoui F, Regad F, Bouzayen M, Latche A, Pech JC (2006). Two highly divergent alcohol dehydrogenases of melon exhibit fruit ripening-specific expression and distinct biochemical characteristics. Plant Mol Biol, 61: 675~685
- Pérez AG, Sanz C, Olias R, Olias JM (1993). Partial purification and some properties of alcohol acyltransferase from strawberry fruits. J Agric Food Chem, 41: 1462~1466
- Zhu YM, Rudell RD, Mattheis PJ (2008). Characterization of cultivar differences in alcohol acyltransferase and l-aminocyclopropane-l-carboxylate synthase gene expression and volatile ester emission during apple fruit maturation and ripening. Postharv Biol Technol, 49: 330~339