

## 嫁接的西瓜果实发育过程中叶和果实蔗糖代谢的一些特性

刘慧英<sup>1,2,\*</sup> 朱祝军<sup>1,\*\*</sup> 刁明<sup>2</sup> 葛志平<sup>3</sup>

<sup>1</sup>浙江大学蔬菜研究所, 杭州 310029; <sup>2</sup>石河子大学园艺系, 新疆石河子 832003; <sup>3</sup>嘉兴市秀洲区农林局, 浙江嘉兴 314000

**摘要** 嫁接瓜果实发育过程中, 叶内蔗糖含量和干物质积累显著高于自根瓜, 自根瓜和嫁接瓜的叶中蔗糖含量与酸性转化酶(AI)、蔗糖磷酸合酶(SPS)活性均呈显著正相关; 嫁接瓜果实中蔗糖含量显著低于自根瓜, SPS活性和果实中糖分的跨液泡膜运输能力亦较自根瓜低; 自根瓜和嫁接瓜叶的干物质积累与叶中 AI 和 SPS 活性、果实 AI 活性呈显著负相关, 与液泡膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性呈显著正相关。

**关键词** 嫁接西瓜; 果实发育; 叶; 果实; 糖代谢

## Characteristics of the Sugar Metabolism in Leaves and Fruits of Grafted Watermelon during Fruit Development

LIU Hui-Ying<sup>1,2,\*</sup>, ZHU Zhu-Jun<sup>1,\*\*</sup>, DIAO Ming<sup>2</sup>, GE Zhi-Ping<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Vegetable Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; <sup>2</sup>Department of Horticulture, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; <sup>3</sup>Bureau of Agriculture and Forestry, Jiaying, Zhejiang 314000, China

**Abstract** During fruit development, the dry matter accumulation and sucrose content were markedly higher in leaves of grafted watermelon than those of own-rooted watermelon. There were good positive correlations among the acid invertase (AI) activity, sucrose phosphate synthase (SPS) activity and sucrose content in leaves of grafted and own-rooted watermelon. The sucrose content and SPS activity and sugar trans-membrane transportation capability in the fruits of grafted watermelon were significantly lower than those of own-rooted watermelon. There were negative correlations between AI activities in leaves and fruits, SPS activity and dry matter accumulation in leaves of grafted and own-rooted watermelon. There were good positive correlations between tonoplast H<sup>+</sup>-ATPase activity and dry matter accumulation in fruit of grafted and own-rooted watermelon.

**Key words** grafted watermelon; fruit development; leaf; fruit; sucrose metabolism

蔗糖是植物光合产物从“源”向“库”运输的主要形式, 也是碳水化合物暂时贮存形态之一(Vizzotto等1996)。作为源器官的叶片中, 碳水化合物的积累与库器官碳水化合物代谢是紧密相联的。小麦开花后, 叶片中碳水化合物积累对籽粒中蔗糖合成代谢呈前馈调节作用(潘庆民等2002); 而大豆叶片中的蔗糖合成则受库器官中同化物需求的反馈调节(Huber和Huber 1996)。就嫁接的西瓜而言, 它是一个复合体, 有别于自根体。我们在前文中曾报道, 嫁接的西瓜果实中, 糖分含量下降, 品质变劣(刘慧英等2004), 据此我们认为, 嫁接西瓜的根系改变, 可能也会引起植株“源”、“库”关系的改变。但目前有关嫁接西瓜叶和果实中, 糖代谢以及糖的跨膜运输能力之间的关系尚未见报道。为此, 本文对这一问题

进行了探讨。

### 材料与方法

嫁接瓜以葫芦品种‘杭州长瓠’(*Lagenaria leucantha* Rusby cv. Hangzhou-long gourd)为砧木, 浙江省主栽的精品小西瓜品种‘小兰’(*Citrullus lanatus* M. var. *citroides* cv. Xiaolan)为接穗, 用插接法嫁接。自根瓜为‘小兰’(对照)。试验在本所试验站进行。随机区组设计。田间管理与一般生产田相同。开始开花时, 于授粉当天选花期相同、节位一致的花挂牌。每一处理分别于花后

收稿 2006-02-16 修定 2006-07-06

资助 国家自然科学基金(30360065)。

\* E-mail: hyluok@sohu.com, Tel: 0993-2057200

\*\* 通讯作者(E-mail: zhjzhu@zju.edu.cn, Tel: 0571-86971979)。

5、10、15、20、25、30 d 选取3株, 取果实上位和下位叶片及果实心部果肉组织, 测定叶片及果实组织中蔗糖含量及蔗糖酸性转化酶(acid invertase, AI)、蔗糖磷酸合酶(sucrose phosphate synthase, SPS)、蔗糖合酶(sucrose synthase, SS)活性。并测定花后10、20、30 d 果实心部果肉组织液泡膜 $H^+$ -ATPase 活性。试验重复3次。

提取和测定蔗糖含量参照前文(刘慧英等2004)采用的方法。

AI、SPS 和 SS 的提取参照 Lingle 和 Dunlap (1987)、赵智中等(2001)采用的方法。AI、SPS 活性测定参照赵智中等(2001)采用的方法。SS 合成和分解活性测定参照Lingle和Dunlap (1987)采用的方法。

液泡膜微囊分离在 $0\sim 4^{\circ}C$ 下进行。取10 g 果肉, 加入1.5倍(W/V)预冷的研磨提取缓冲液[60 mmol·L<sup>-1</sup> HEPES-Tris (pH 7.5)、300 mmol·L<sup>-1</sup> 蔗糖、5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA、0.5 mmol·L<sup>-1</sup> 乙二醇双乙胺醚-N, N' 四乙酸(EGTA)、2 mmol·L<sup>-1</sup> DTT、1.5% 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)], 研磨成匀浆; 经4层纱布过滤, 滤液以8 000×g 离心20 min; 取10 mL 上清液, 置于梯度不连续蔗糖[从下至上为45%、33%和15% (W/V)蔗糖溶液]中, 以80 000×g 梯度离心2.5 h; 取5 mL 15%~33% 梯度界面处离心沉淀物, 用缓冲液[20 mmol·L<sup>-1</sup> HEPES-Tris (pH 7.5)、5 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA、0.5 mmol·L<sup>-1</sup> EGTA]稀释2倍; 震荡混匀后, 以100 000×g 离心1 h; 弃去上清液, 沉淀用0.5 mL 悬浮液[20 mmol·L<sup>-1</sup> HEPES-Tris (pH 7.5)、300 mmol·L<sup>-1</sup> 蔗糖、0.5 mmol·L<sup>-1</sup> EGTA、0.5 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O]悬浮, 即为液泡膜微囊。

液泡膜 $H^+$ -ATPase 水解活性测定按何龙飞等(2001)采用的方法。

统计分析采用SAS软件进行方差分析, 差异显著性检验用LSD法。

## 实验结果

### 1 叶的干物质积累

叶的干物质积累反映了植株的同化能力。果

实发育不同时期的自根瓜和嫁接瓜的叶干物质积累有显著差异。从图1可以看出, 果实发育初期(花后5~10 d), 植株同化能力低, 叶的干物质积累缓慢, 自根和嫁接的西瓜植株干物质平均日积累量分别为0.012和0.016 g·d<sup>-1</sup>。果实快速膨大期(花后10~15 d)是西瓜植株同化能力最旺盛的时期, 叶的干物质积累速率最快, 积累量最多。自根和嫁接西瓜的干物质平均日积累量分别达0.048和0.057 g·d<sup>-1</sup>。成熟期间, 叶日渐衰老, 植株同化能力下降, 叶的干物质积累减少。在果实发育进程中, 嫁接瓜的叶中干物质积累比自根瓜的多。

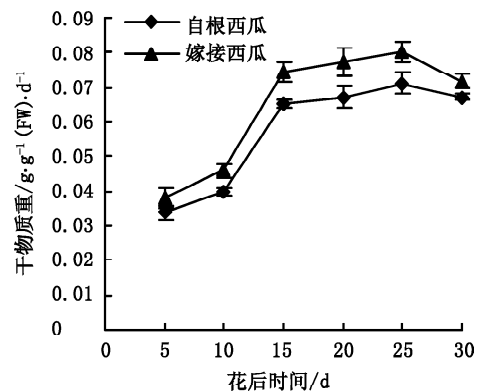


图1 西瓜果实发育过程中叶内干物质积累的变化  
Fig. 1 Changes in dry matter accumulation in leaves of watermelon during fruit development

### 2 叶中SPS、SS和AI活性与蔗糖积累

图2和图3显示:

(1)开花后10 d, 自根和嫁接瓜叶的AI活性维持较高水平, 之后显著下降, 果实发育后期, AI活性降至最低。两者活性变化无差异。果实发育初期, 2种西瓜叶中的SPS活性最高, 但在整个果实发育过程中, 叶片SPS活性持续下降。果实成熟时(花后30 d), 活性降至最低。嫁接瓜叶的SPS活性显著高于自根瓜。不论是自根瓜还是嫁接瓜, 从开花至花后20 d, 叶中SS活性呈上升趋势; 开花20 d的活性达最高, 随后活性下降; 在果实发育进程中, 花后15~25 d, SS保持较高活性。嫁接瓜叶的SS活性显著高于自根瓜(图2)。

(2)叶中蔗糖含量是其蔗糖合成、降解和外运

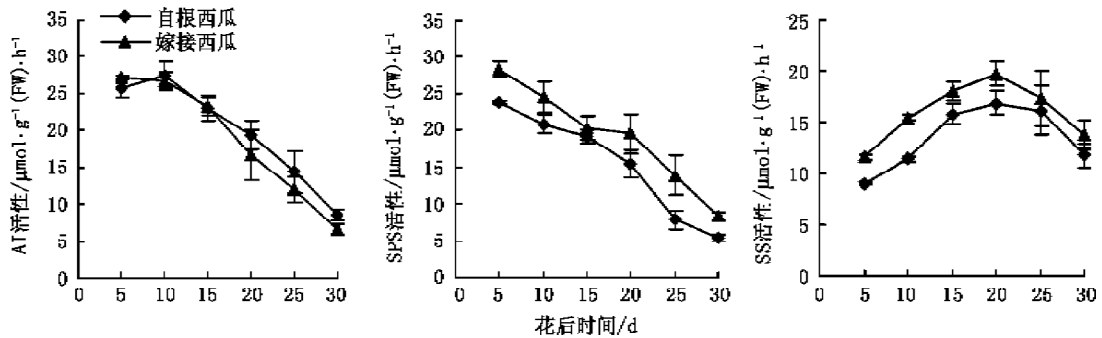


图2 西瓜果实发育过程中叶内与蔗糖代谢相关的酶活性变化

Fig. 2 Changes in enzyme activities related to sucrose metabolism in leaves of watermelon during fruit development

三者的综合反映。在果实发育进程中, 自根瓜和嫁接瓜叶中蔗糖含量变化呈现先升后降的趋势。在花后5~10 d, 叶中蔗糖含量上升, 保持较高水平。但自花后10 d, 叶中蔗糖含量下降, 嫁接瓜从花后10 d开始, 蔗糖即急剧下降, 自根瓜则于花后15 d开始急剧下降。在果实发育过程中, 嫁接瓜叶中蔗糖含量均显著高于自根瓜(图3)。

以上结果的相关分析表明: (1) 自根瓜与嫁接瓜叶中, 蔗糖含量与AI活性呈显著正相关( $r_{自}=0.9552$ ,  $r_{嫁}=0.9767$ ), 与SPS活性亦呈显著正相关( $r_{自}=0.9437$ ,  $r_{嫁}=0.9231$ ), 与SS活性不显著。表明AI和SPS对叶中蔗糖含量的影响显著。(2) 自根及嫁接瓜的叶干物质积累与叶中AI活性均呈显著线性负相关( $r_{自}=-0.7532$ ,  $r_{嫁}=-0.7790$ ), 与叶中SPS活性亦均呈显著线性负相关( $r_{自}=-0.7271$ ,  $r_{嫁}=-0.7547$ )。说明作为“源”的叶中, AI催化的蔗糖降解和SPS催化的蔗糖合成过程均受到

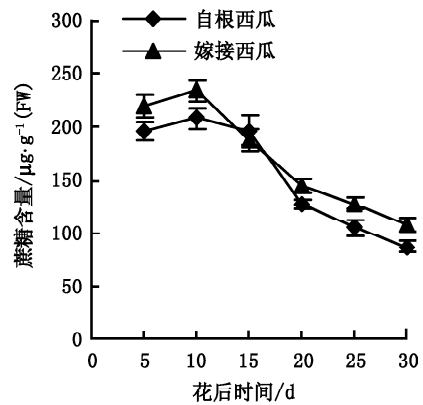


图3 西瓜果实发育过程中叶内蔗糖含量的变化

Fig. 3 Changes in sucrose content in leaves of watermelon during fruit development

叶中产物积累的调节。

### 3 果实中SPS、SS和AI活性与蔗糖积累

从图4和图5中可以看出:

(1) 嫁接瓜与自根瓜的幼果, AI活性均最高,

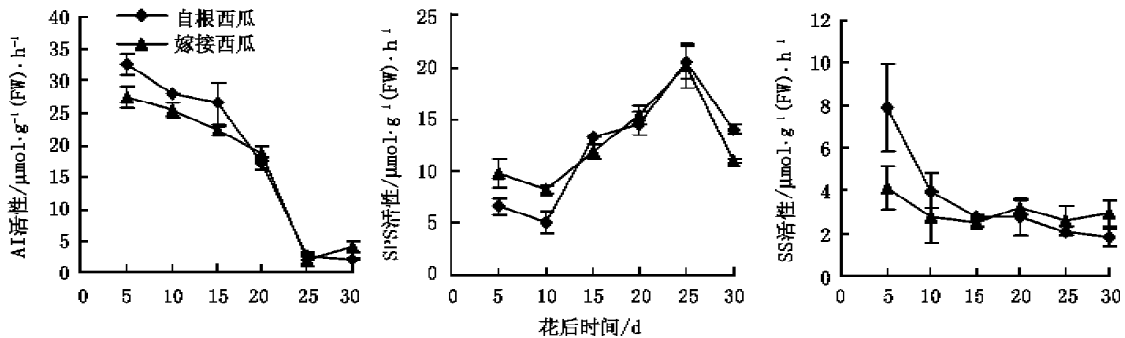


图4 西瓜果实发育过程中果实内与蔗糖代谢相关的酶活性变化

Fig. 4 Changes in enzyme activities related to sucrose metabolism in fruits of watermelon during fruit development

随着果实发育, 呈下降趋势, 自根瓜果实在花后 25 d 降至最低。从开花至花后 20 d, 自根瓜 AI 活性显著高于嫁接瓜; 此后, 迅速降至很低且差异不大。果实发育初期(花后 5~10 d)和后期(花后 25~30 d), SPS 活性表现为下降; 而在花后 10~25 d, 呈直线上升趋势, 于花后 25 d 至峰值。花后 5~10 d, 嫁接瓜果实在 SPS 活性显著高于自根瓜; 花后 10~25 d, 自根瓜与嫁接瓜 SPS 活性无差异; 花后 25~30 d, 嫁接瓜 SPS 活性又低于自根瓜。不论是嫁接瓜还是自根瓜, 在果实发育过程中, SS 活性均呈下降趋势, 在花后 5 d, SS 活性最高, 随后下降。在果实发育初期(花后 5~10 d), SS 活性降低最大, 随后降低较平缓。在花后 5~10 d, 自根瓜 SS 活性显著高于嫁接瓜; 花后 15 d 后, 两者没有差异(图 4)。

(2) 自根瓜和嫁接瓜蔗糖积累表现为: 从开花至花后 20 d, 自根瓜与嫁接瓜果实在蔗糖含量无显著差异, 但自花后 20 d 后, 嫁接瓜蔗糖含量显著低于自根瓜(图 5)。

以上结果的相关分析表明, 自根瓜的果实中蔗糖积累与果实中 AI、SPS 活性分别呈显著负相关和正相关( $r=-0.99574$ ,  $r=0.8279$ ); 嫁接瓜果实在蔗糖积累与 AI 活性呈显著负相关( $r=-0.9839$ )。

#### 4 果实中糖分跨膜运输能力与蔗糖积累

植物细胞的中央液泡占细胞体积的 80%~90%, 它是果实中可溶性糖的主要贮存细胞器。糖跨液泡膜运输同时存在主动和被动 2 个过程。主动运输的能量来自液泡膜  $H^+$ -ATPase 和 PPase 产生的  $H^+$  的跨液泡膜梯度(吕英民和张大鹏 2000)。

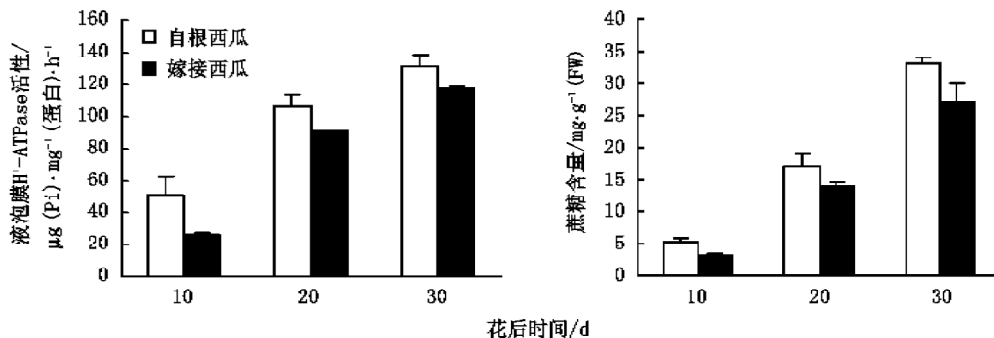


图6 西瓜果实发育过程中果实内液泡膜  $H^+$ -ATPase 活性与蔗糖含量的变化

Fig. 6 Changes in tonoplast  $H^+$ -ATPase activity and sucrose content in fruits of watermelon during fruit development

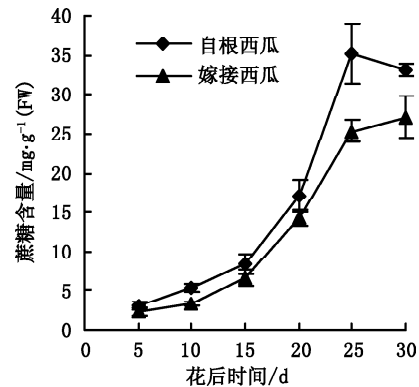


图5 西瓜果实发育过程中果实内蔗糖含量的变化

Fig. 5 Changes in sucrose content in fruits of watermelon during fruit development

从图 6 可以看出, 果实发育的早期、中期及后期, 液泡膜  $H^+$ -ATPase 活性是逐渐升高的, 花后 30 d 达最高。自根瓜果实在液泡膜  $H^+$ -ATPase 活性显著高于嫁接瓜。另外, 果实发育早期(花后 10 d), 蔗糖含量最低; 成熟期(花后 30 d)蔗糖含量最高, 果实发育中期及成熟期分别比花后 10 d 的蔗糖含量增加 6.17 和 8.27 倍。差异分析表明, 在花后 10~20 d, 自根瓜与嫁接瓜果实在蔗糖含量无显著差异; 花后 20 d 后, 嫁接瓜显著低于自根瓜。

以上结果的相关分析表明, 西瓜果实液泡膜  $H^+$ -ATPase 活性与同期蔗糖含量呈显著相关, 相关系数分别为  $r=0.9505$  (自根瓜) 和  $r=0.9597$  (嫁接瓜)。说明果实中蔗糖积累与液泡膜  $H^+$ -ATPase 活性有关, 自根瓜果实在糖分的跨液泡膜运输能力比嫁接瓜强。

AI 定位于细胞壁和液泡中, 主要分解蔗糖, 以维持胞间和液泡内外高的蔗糖浓度梯度, 从而促进蔗糖从源组织到库组织韧皮部卸载和跨膜运输, 因此, AI 是衡量果实库强的生化指标之一(吕英民和张大鹏 2000)。液泡膜  $H^+$ -ATPase 催化  $H^+$  的定向性运输, 在液泡膜内外建立电化学势, 从而为蔗糖的跨液泡膜运输提供驱动力(吕英民和张大鹏 2000)。相关分析表明, 西瓜的叶干物质积累与果实 AI 活性呈显著负相关( $r_{自}=-0.7751$ ,  $r_{嫁}=-0.7015$ ), 与果实液泡膜  $H^+$ -ATPase 活性呈显著正相关( $r_{自}=0.9561$ ,  $r_{嫁}=0.8985$ )。说明作为“源”的叶同化能力受到作为“库”的果实中 AI 活性和果实糖跨膜运输能力的调节。

## 讨 论

蔗糖从叶片中合成到进入果实, 经历一个复杂的过程。植株开花后, 由叶光合细胞叶绿体同化  $CO_2$  生成的磷酸丙糖, 经转运蛋白介导运到叶肉细胞的细胞质中, 合成蔗糖后, 经韧皮部运输卸载到正在发育的果实细胞中, 在相关酶的作用下, 经一系列的代谢转化和跨膜运输到果实的相应部位(Islam 等 1996; Moing 等 1992; Moriguchi 等 1991)。一般认为, 植物叶细胞中蔗糖的合成主要由 SPS 和蔗糖磷酸酯酶(Suc-6-Pase)催化(Echeverria 1995), 其中, SPS 是蔗糖合成调节的关键酶(Champingny 1995)。在果实细胞中, 蔗糖的降解主要由 SS 和 AI 催化, 蔗糖的再合成由 SPS 催化。有人认为, 库器官中 SS 和 AI 活性可作为库强的指标(Wang 等 1994)。根据甜瓜中已有的研究结果(Hubbard 等 1989; Lester 和 Dunlap 1985), 可以认为, AI 和 SPS 共同调控瓜类的果实中蔗糖积累, SPS 起主要的调控作用。

嫁接瓜的叶中蔗糖含量显著高于自根瓜, 其干物质积累也高于自根瓜, 说明嫁接瓜的同化能力高于自根瓜, 即其“源”比自根瓜的大。相关分析也表明, 西瓜叶中蔗糖含量与 AI、SPS 活性均呈显著正相关。表明 AI 和 SPS 是叶中蔗糖合成调节的关键酶。自根瓜与嫁接瓜叶细胞中, AI 活性无显著差异, 因此可以认为, SPS 活性是造成自根瓜叶中干物质积累量和蔗糖含量低于嫁接瓜

叶的主要原因。就果实“库”而言, 花后 20 d 内, 自根瓜与嫁接瓜果实中蔗糖含量无显著差异, 但花后 20 d 以后, 嫁接瓜的蔗糖含量显著低于自根瓜。相关分析也表明, AI、SPS 是自根瓜果实中蔗糖代谢的关键酶, 而 AI 则是嫁接瓜果实中蔗糖代谢的关键酶。在果实发育后期, 自根瓜和嫁接瓜果实中 AI 活性无差异, 但自根瓜中 SPS 活性和果实糖分的跨液泡膜运输能力较嫁接瓜强, 因此可以认为, 这可能是嫁接瓜果实发育后期蔗糖含量低的原因。

在“源”与“库”的关系中, Evans (1973) 强调“库”的决定作用, 他认为“库”能促进叶的光合活性, 调节光合产物的分配, 扩大库容, 因而产量也提高; Thorne (1965) 则强调“源”的决定作用, 他认为光合作用在产量形成中起主导作用, 扩大叶面积和提高光合效率就能提高产量。本文结果表明, 自根瓜及嫁接瓜叶干物质积累与叶中 AI、SPS 活性呈显著的线性负相关关系。说明作为“源”的叶中, AI 催化的蔗糖降解和 SPS 催化的蔗糖合成过程均受同化能力的调节。嫁接瓜叶的同化能力高于自根瓜, 因此, 嫁接瓜的 SPS 活性增高, 从而也促进蔗糖的合成。这一结果与前人在大豆和小麦中的结论是一致的(潘庆民等 2002; Lingle 和 Dunlap 1987; 王文静等 1993)。此外, 自根瓜和嫁接瓜叶的同化能力与果实中 AI 活性呈显著的负相关, 与液泡膜  $H^+$ -ATPase 活性呈显著的正相关。说明叶的同化能力受果实中 AI 活性和果实糖分跨膜运输能力的调节。因此, 自根瓜与嫁接瓜的“源”和“库”之间均表现为相互依存而又制约的关系。

## 参考文献

- 何龙飞, 刘友良, 沈振国, 王爱勤(2001). 铝对小麦根细胞质膜 ATP 酶活性和膜脂组成的影响. 中国农业科学, 34 (5): 526~531
- 刘慧英, 朱祝军, 钱琼秋(2004). 不同砧木影响小型早熟西瓜果实糖代谢及相关酶活性的研究. 园艺学报, 31 (1): 47~52
- 吕英民, 张大鹏(2000). 果实发育过程中糖的积累. 植物生理学通讯, 36 (3): 258~265
- 潘庆民, 于振文, 王月福(2002). 小麦开花后旗叶中蔗糖合成与籽粒中蔗糖降解. 植物生理与分子生物学学报, 28 (3): 235~240

- 王文静, 梁月丽, 高松洁, 李磊 (2003). 灌浆期间不同穗型冬小麦品种源库端的碳氮化合物含量及与其相关的酶活性变化. 植物生理学通讯, 39 (4): 314~316
- 赵智中, 张上隆, 徐昌杰 (2001). 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, 28: 112~118
- Champingny ML (1995). Integration of photosynthetic carbon and nitrogen metabolism in higher plants. *Photosyn Res*, 46: 117~127
- Echeverria E (1995). Intracellular localization of sucrose phosphate in storage cells. *Physiol Plant*, 95: 559~562
- Evans LT (1973). *Crop Physiology*. Cambridge: Cambridge University Press
- Hubbard NL, Huber SC, Pharr DM (1989). Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. *Plant Physiol*, 91: 1527~1534
- Huber SC, Huber JL (1996). Role and regulation sucrose phosphate synthase in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 47: 431~445
- Islam MD, Matsui T, Yoshida Y (1996). Carbohydrate content and the activities of sucrose synthase, sucrose phosphate synthase and acid invertase in different tomato cultivars during fruit development. *Sci Hortic*, 65: 125~136
- Lester GE, Dunlap JR (1985). Physiological changes during development and ripening of "Perlia" muskmelon fruit. *Sci Hortic*, 26: 323~331
- Lingle SE, Dunlap JR (1987). Sucrose metabolism in netted muskmelon fruit during development. *Plant Physiol*, 84: 386~389
- Moing A, Carbonne F, Rashad MH (1992). Carbon fluxes in mature peach leaves. *Plant Physiol*, 100: 1878~1884
- Moriguchi T, Ishizawa Y, Sanada T (1991). Role of sucrose synthase and other related enzymes in sucrose accumulation in peach plant. *J Jap Soc Hortic Sci*, 60: 531~538
- Thorne GN (1965). Changes in plant population after flowering. *Ann Bot*, 29 (115): 317~329
- Vizzotto G, Pinton R, Varanini Z (1996). Sucrose accumulation in developing peach fruit. *Physiol Plant*, 96: 225~230
- Wang F, Smith AG, Brenner ML (1994). Temporal and spatial expression pattern of sucrose synthase during tomato fruit development. *Plant Physiol*, 104: 535~540