

DOI:10.13718/j.cnki.xsxb.2021.12.007

青脆李采后糖积累及代谢相关酶活性变化^①

龚 娣^{1,2}, 高伦江¹, 曾小峰¹,
董 全², 曾德顺¹, 刁 源¹, 商 桑¹

1. 重庆市农业科学院, 重庆 400050; 2. 西南大学 食品科学学院, 重庆 400715

摘要: 通过分析青脆李果实采摘后在贮藏过程中的糖分组成变化及相关酶活性的变化, 研究青脆李采后 6 种糖的积累情况和 14 种糖代谢相关酶的变化情况. 结果表明: 青脆李成熟果实中果胶质量分数最高; 其次是蔗糖, 两种糖质量分数超过总糖质量分数的 60%; 淀粉和果糖质量分数接近, 各占总糖的 12.81% 和 13.31%; 葡萄糖质量分数稍低, 占 8.89%; 质量分数最低的可溶性糖为山梨醇, 仅占 0.58%. 果胶酶中对果胶起主要分解作用的是多聚半乳糖醛酸酶(PG); 对可溶性糖的积累转化起主要作用的是可溶性酸性转化酶(S-AI)、蔗糖合成酶分解方向(SS-I)和 α -淀粉酶, 同时还与中性转化酶(NI)密切相关.

关键词: 青脆李; 可溶性糖; 糖代谢; 酶活性

中图分类号: S663.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2021)12-0037-10

Changes in Postharvest Sugar Accumulation and Metabolism-related Enzyme Activities of Green Crisp Plum

GONG Di^{1,2}, GAO Lunjiang¹, ZENG Xiaofeng¹,
DONG Quan², ZENG Deshun¹, DIAO Yuan¹, SHANG Sang¹

1. Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400050, China;

2. School of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The accumulation of six sugars and the changes of fourteen enzymes related to sugar metabolism in green crisp plum fruits were studied by analyzing the changes of sugar composition and related enzyme activities during storage after harvesting. The results showed that the highest pectin content was found in the mature fruits of green crisp plums, followed by sucrose, with the content of two sugars exceeding 60% of the total sugar content. The contents of starch and fructose were close, each accounting for about

① 收稿日期: 2021-02-22

基金项目: 重庆市农业科学院绩效激励引导专项(cqaas2019jxj103); 重庆市农业科学院青年创新团队项目(NKY-2019QC08); 重庆市科研机构绩效激励引导专项(cstc2019jxjl80012).

作者简介: 龚 娣, 硕士研究生, 主要从事果蔬加工的研究.

通信作者: 高伦江, 硕士, 副研究员.

12.81% and 13.31% of the total sugars. Glucose content is slightly lower, accounting for about 8.89%, and the lowest soluble sugar is sorbitol, containing only about 0.58%. The pectinase that plays a major role in the decomposition of pectin is polygalacturonase (PG). The main role in the accumulation and conversion of soluble sugars is played by soluble acid convertase (S-AI), sucrose synthase catabolic direction (SS-I) and α -amylase, and also closely related to neutral convertase (NI).

Key words: Green crisp plum; Soluble sugar; Glucose metabolism; Enzyme activity

青脆李(*Prunus americana*)属双子叶植物纲蔷薇目蔷薇科(Rosaceae),核果类果树。目前,李的商业品种主要分为中国李(*P. salicina* Lindl.)和欧洲李(*P. do mestic a* L.)^[1]。据世界粮农组织(World Food and Agriculture Organization)统计,2017 年我国李产量 680.4 万 t, 占全世界总产量的 57.8%, 位列世界第一。青脆李种植地主要分布在我国南方地区,云、贵、川地区居多。在重庆,青脆李不仅是高寒山区农民增收致富的主导品种,也是乡村休闲体验游的重要载体^[2]。青脆李是呼吸跃变型果实,具有养阴生津、润肠通便、补中益气等药用价值,还富含糖、多种氨基酸、维生素和矿物质^[3-4],食用价值高,又由于其甜脆爽口的独特风味而深受消费者喜爱。目前,随着人民生活水平的不断提升和对外销售的优势不断增强,优质李果需求越来越旺盛,青脆李的价格也在不断攀升,因此,青脆李果实的发育特性和采后果实的生理代谢及贮藏特性也逐步受到更多的关注。

果实的糖分种类、质量分数及其构成比例和形成动态是果实风味形成的重要基础之一,是决定果实品质和商品价值的主要因素^[5]。蔗糖代谢、山梨醇代谢、己糖代谢和淀粉代谢途径是目前公认的 4 大糖代谢途径,这几种途径均由不同类型的代谢酶参与。不同物种间糖积累机制存在较大差异^[6],代谢酶的调控作用也存在较大的差别。目前关于蔗糖代谢的主要代谢酶有酸性转化酶(AI)、中性/碱性转化酶(NI)、蔗糖合成酶(SS)、蔗糖磷酸合成酶(PPS)等^[7];淀粉代谢酶主要包括尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UGPase, UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase)、腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase, ADP-glucose pyrophosphorylation)、 α -淀粉酶(α -AL, 1, 4- α -D-glucan glucanohydrolase)、 β -淀粉酶(β -AL, 1, 4- α -D-glucan maltohydrolase)^[8]。UGPase 与糖原合成、半乳糖利用、糖蛋白合成有关,在碳水化合物代谢中起核心作用。UGPase 通过提供 UDP-葡萄糖,再由蔗糖代谢的 PPS 形成蔗糖^[9-11]。AGPase 主要是催化淀粉合成前体 ADP-葡萄糖,调控淀粉和蔗糖代谢、氨基糖与核糖代谢。 α -AL 为内切酶,通过切割淀粉中的 1, 4-糖苷键,将直链淀粉水解成麦芽糖和麦芽三糖,再将麦芽三糖水解成葡萄糖和麦芽糖,从而调控淀粉和蔗糖代谢。 β -AL 为外切酶,只能切割 1, 4-糖苷键,然后产生麦芽糖和限制性糊精,主要负责调控淀粉和蔗糖代谢。果胶酶(Pectinase)是一种分解果胶的功能酶,其质量分数和活性会影响到细胞壁的稳定性和裂果的产生,对果实软化也有直接作用^[12-13]。多聚半乳糖醛酸酶(PG)和果胶酯酶(PE)主要是分解细胞壁中的果胶,破坏或降低细胞壁的延展性。果胶裂解酶(PL)能够水解果胶产生水溶性果胶,切断聚甲氧基半乳糖醛酸和阿拉伯糖之间的化学键,从而降解果胶^[14]。山梨醇是梨属等蔷薇科木本果树最主要的光合作用产物^[15-16],山梨醇作为连接着“源”端碳物质积累和“库”端各种糖组分之间的相互转化的物质,影响着各“库”器官的生理变化,对“库”器官的功能和作用机制至关重要。山梨醇可以通过 NAD⁺ 型山梨醇脱氢酶(sorbitol dehydrogenase, NAD⁺-SDH)转化成果糖,然后果糖进一步转化成蔗糖或淀粉等其他糖类物质,而且 NAD⁺-SDH 也可催化山梨醇和葡萄糖之间的相互转化。

目前,国内外对糖代谢的研究主要集中在苹果^[17]、猕猴桃^[18]、梨^[19]、草莓^[20]等水果,关于青脆李糖代谢的研究较少。为此,我们研究了青脆李采后果实低温贮藏下果肉的糖代谢特性,特别是果实蔗糖代谢的特性及变化规律,通过测定和研究果胶、淀粉、蔗糖、果糖、葡萄糖、山梨醇等 6 种糖组分及相关酶活性的消长变化,明确青脆李采后组分的量变关系,确定青脆李采后的主要糖代谢路径,为今后调控青脆李采后果实风味及品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

青脆李采自重庆市綦江区通惠水果人农场。

EX324ZH 电子分析天平,上海上天精密仪器有限公司;GL-12A 高速冷冻离心机,上海菲恰尔分析仪器有限公司;UV-6000PC 紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;HH-4 电子恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;DHG-9053J 恒温鼓风干燥箱,上海三发科学仪器有限公司;HR2104 匀浆机,飞利浦公司;全波长酶标仪,美国基因公司 SYNERGYH1MG.

1.2 实验方法

挑选果型端正、大小均匀、无病虫斑和机械损伤的果实,每个果实均套上 6 cm×5 cm PE 泡沫网套,采收当天处理.按每筐 100 个左右装入已消过毒的塑料筐中,筐外套 0.05 mm 厚度聚乙烯薄膜袋,袋自然合拢,不扎口.置于 5 ℃,相对湿度为 95.0%左右的冷库中贮藏.平均分成 6 组,每组 2 份,每份为 1 kg 左右,大约 30 颗,预冷后为第一次取样,然后每 7 d 同一时段取样 1 次.取样时,将青脆李去核低温榨汁后分 3 组贮藏于-80 ℃超低温冰箱中,用于糖组分和酶活性测试.总共取样 6 次,每次重复测 3 组,实验周期为 35 d.在贮藏过程中,总共测定 6 种糖类,包括果胶、淀粉、葡萄糖、果糖、蔗糖、山梨醇.酶活性的测定包括果胶代谢:果胶酯酶(PE)、果胶裂解酶(PL)、多聚半乳糖醛酸酶(PG),糖代谢:蔗糖磷酸合成酶(SPS)、蔗糖合成酶分解方向(SS-Ⅰ)、蔗糖合成酶合成方向(SS-Ⅱ)、中性/碱性转化酶(NI)、可溶性酸性转化酶(S-AI)、细胞壁不溶性酸性转化酶(B-AI),山梨醇代谢:山梨醇脱氢酶(NAD⁺-SDH),共 10 种代谢酶.6 种糖类和 10 种酶活性的检测均采用苏州格锐思生物科技有限公司的试剂盒进行检测.

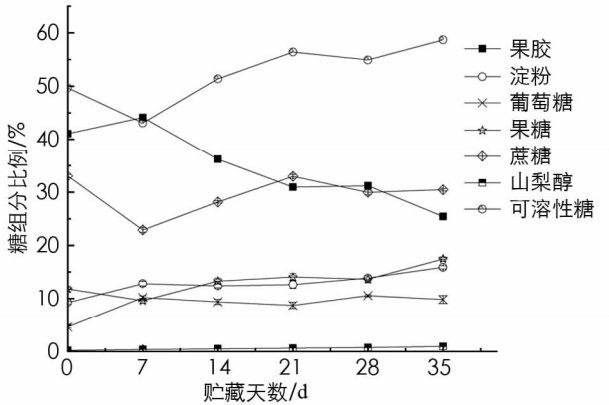
1.3 数据处理

实验 3 次重复,酶活性单位为 μmol/(h·g).用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析,采用 origin 2018 作图. $p<0.05$, $p<0.01$ 为差异有统计学意义.

2 结果与分析

2.1 青脆李贮藏过程中不同糖组分所占比例变化

从其构成来看,果胶和蔗糖是青脆李果实的主要糖组分,分别占 6 种糖组分的 34.83%和 29.58%;果糖、淀粉、葡萄糖、山梨醇质量分数占总糖质量分数分别为 13.31%,12.81%,8.89%,0.58%.蔗糖在贮藏过程中呈波动下降趋势,淀粉占比高于葡萄糖,但与葡萄糖质量分数变化趋势相近,都呈现先增加后减少的趋势.果胶质量分数呈现先上升后下降的趋势.果糖质量分数在 7~14 d 内不断增加,而 7~14 d 内葡萄糖质量分数逐渐下降,其后维持在相对稳定的水平.山梨醇的质量分数呈线性增长趋势,占比从 0.24%增加至 0.86%(图 1).



2.2 青脆李果实贮藏期糖组分之间的相关性分析

对青脆李果实与糖质量分数间进行相关性分析, 图 1 青脆李采后果实糖组分质量分数比例变化结果表明,蔗糖是青脆李果实中重要的可溶性糖.青脆李贮藏过程中,果实中蔗糖质量分数与淀粉、葡萄糖质量分数呈极显著负相关,相关系数分别为-0.710和-0.913;与果糖质量分数呈显著正相关,相关系数为 0.478;与可溶性糖质量分数呈极显著正相关,相关系数为 0.961.说明果实发育过程中,总糖质量分

数的增加, 主要贡献是因为蔗糖质量分数的增加. 果胶质量分数与山梨醇质量分数呈显著正相关, 相关系数为 0.564(表 1).

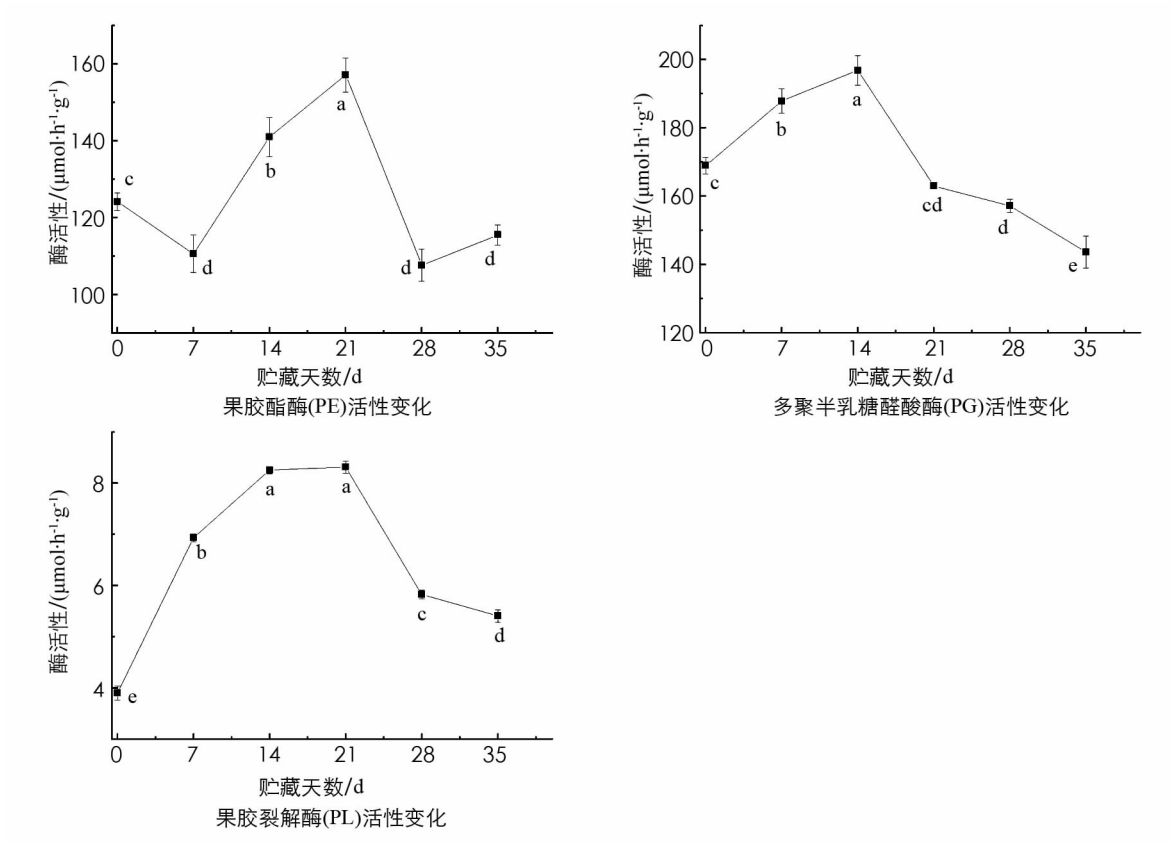
表 1 青脆李采后糖组分质量分数的相关性分析

相关系数	果胶	淀粉	葡萄糖	果糖	蔗糖	山梨醇	可溶性糖
果胶	1						
淀粉	-0.028	1					
葡萄糖	-0.008	0.656**	1				
果糖	0.361	-0.167	-0.656**	1			
蔗糖	0.140	-0.710**	-0.913**	0.478*	1		
山梨醇	0.564*	0.631**	0.378	0.356	-0.494*	1	
可溶性糖		-0.602**	-0.928**	0.696	0.961**	-0.253	1

注: * 表示 $p<0.05$, ** 表示 $p<0.01$, 差异有统计学意义.

2.3 采后果实果胶质量分数和果胶代谢酶活性的变化

研究表明, 采后青脆李果实中果胶酯酶(PE)活性变化趋势为先下降后上升然后再下降, 在采后第 21 d 达到峰值, 为 $152.40\text{ }\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$. 在第 21~28 d PE 活性迅速下降, 其变化趋势与果胶裂解酶(PL)的变化趋势接近. PL 酶活性约为 PE 酶活性峰值的 1/19. 多聚半乳糖醛酸酶(PG)酶活性在 1~14 d 内持续上升, 14 d 时达到峰值, 为 $196.83\text{ }\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$, 随后持续下降. 通过对果胶的相关性研究结果可知, 果胶的质量分数与 PL 和 PE 的酶活性呈负相关, 而与 PG 的酶活性呈显著正相关, 相关系数为 0.358. PE 和 PL 的相关性有统计学意义, 相关系数为 0.613. 由此可知, 青脆李采后贮藏过程中, 原果胶质量分数的降低主要受 PG 酶活性变化的控制(图 2, 表 2).



图中小写字母不同表示 $p<0.05$, 差异有统计学意义.

图 2 青脆李采后果胶相关酶活性变化

表 2 青脆李采后果胶质量分数和相关酶活性的相关性分析

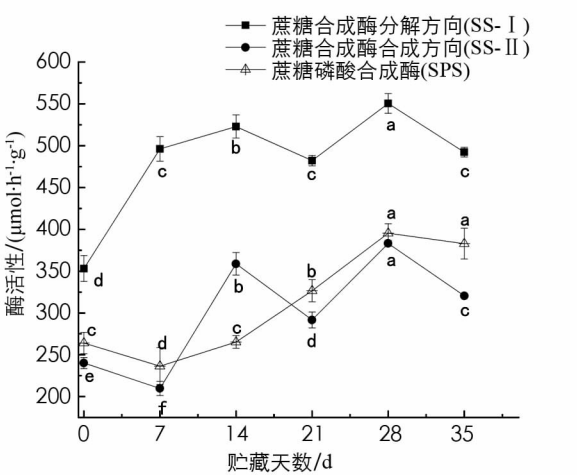
相关性	果胶	果胶酯酶(PE)	果胶裂解酶(PL)	多聚半乳糖醛酸酶(PG)
果胶	1			
果胶酯酶(PE)	−0.135	1		
果胶裂解酶(PL)	−0.280	0.613**	1	
多聚半乳糖醛酸酶(PG)	0.358*	−0.424	−0.123	1

注：* 表示 $p<0.05$ ，** 表示 $p<0.01$ ，差异有统计学意义。

2.4 采后果实可溶性糖相关酶活性的变化

2.4.1 采后青脆李贮藏过程中蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶活性的变化

5℃下,果肉的蔗糖合成酶分解方向(SS-I)活性在贮藏前期(0~14 d)呈上升趋势,而后保持相对稳定;蔗糖合成酶合成方向(SS-II)活性在0~7 d 呈下降趋势,7~14 d 活性迅速增加,随后其活性保持在 290.60~383.10 μmol/(h·g)之间. 在第 14~35 d 内,SS-I和 SS-II活性变化趋势相似,均在第 28 d 达到峰值,分别为550.52 μmol/(h·g)和 383.15 μmol/(h·g). 蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性在 0~7 d 呈先减小、7~28 d 呈逐渐升高的趋势,在第 28 d 达到活性峰值 395.439 μmol/(h·g). 相关性分析可知,SS-I和 SS-II呈极显著正相关,相关系数为 0.638. SS-I活性与葡萄糖质量分数呈极显著正相关,相关系数为 0.845;与蔗糖呈极显著负相关,相关系数为 −0.847. SPS 的酶活性与果糖质量分数、SS-II 的酶活性呈显著正相关,相关系数分别为 0.534,0.662(图 3,表 3).



图中小写字母不同表示 $p<0.05$ ，差异有统计学意义。

图 3 青脆李采后蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶活性变化

表 3 青脆李果实中糖组分与相关酶活性的相关性分析

相关性	蔗糖合成酶分解方向(SS-I)	蔗糖合成酶合成方向(SS-II)	蔗糖磷酸合成酶(SPS)	中性/碱性转化酶(NI)	可溶性酸性转化酶(S-AI)	细胞壁不溶性酸性转化酶(B-AI)	山梨醇脱氢酶(NAD ⁺ -SDH)
蔗糖合成酶分解方向(SS-I)	1						
蔗糖合成酶合成方向(SS-II)	0.638**	1					
蔗糖磷酸合成酶(SPS)	0.428	0.662**	1				
中性/碱性转化酶(NI)	0.38	0.061	−0.109	1			
可溶性酸性转化酶(S-AI)	−0.733**	−0.051	−0.062	−0.15	1		
细胞壁不溶性酸性转化酶(B-AI)	−0.135	−0.431	−0.691**	0.692**	0.064	1	
山梨醇脱氢酶(NAD ⁺ -SDH)	−0.778**	−0.237	−0.405	−0.288	0.829**	0.247	1
葡萄糖	0.845**	0.209	0.115	0.586*	−0.851**	0.195	−0.835**
果糖	−0.331	0.327	0.534*	−0.634**	0.506*	−0.601**	0.408
蔗糖	−0.847**	−0.250	−0.132	−0.429	0.884**	−0.151	0.744**
山梨醇	0.641**	0.636**	0.869**	−0.123	−0.444	−0.657**	−0.626**
可溶性糖	−0.749**	−0.061	0.124	−0.512*	0.860**	−0.348	0.664**

注：* 表示 $p<0.05$ ，** 表示 $p<0.01$ ，差异有统计学意义。

2.4.2 采后青脆李贮藏过程中中性/碱性转化酶和酸性转化酶活性的变化

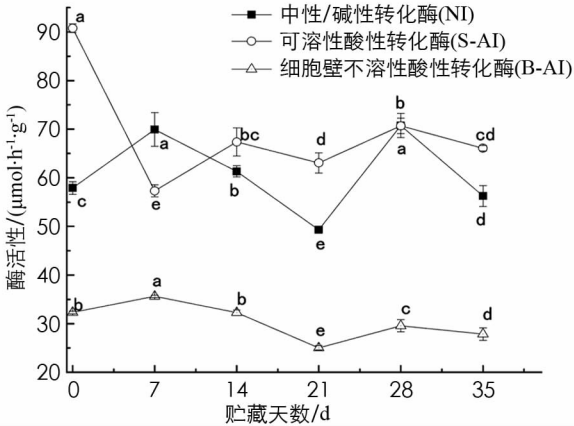
在青脆李果实中,中性/碱性转化酶(NI)活性的波动较大,活性在 0~7 d 上升,随后 14 d 迅速下降,在 21~28 d 又迅速回升,随即又下降到刚采摘时的活性. NI 活性与细胞壁不溶性酸性转化酶(B-AI)活性的变化趋势相近,均是在第 7 d 和第 21 d 达到最高值和最低值. 不同的是, B-AI 活性明显小于 NI 活性,约占 NI 活性的 1/2.可溶性酸性转化酶(S-AI)活性在 0~7 d 急速下降,在第 7 d 达到最低值 57.30 μmol/

(h·g), 随后上升保持在相对稳定的水平. 相关性分析表明, 青脆李果实 NI 活性与葡萄糖呈显著正相关, 相关系数为 0.586; 与果糖呈极显著负相关, 相关系数为-0.634. S-AI 与葡萄糖质量分数和 SS-I 活性呈极显著负相关($p<0.01$), 而与蔗糖和果糖质量分数呈显著正相关. B-AI 活性与果糖质量分数和 SPS 活性均呈极显著负相关, 相关系数为-0.601 和-0.691, 而与 NI 活性呈极显著正相关, 相关系数为 0.692(图 4, 表 3).

2.4.3 采后果实淀粉质量分数和淀粉类酶活性的变化及其相关性分析

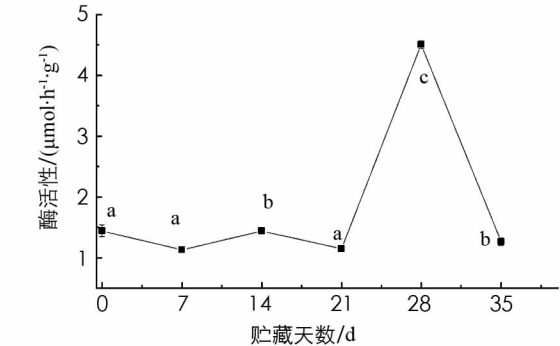
2.4.3.1 采后果实淀粉质量分数和淀粉类酶活性的变化

腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)在前期和中期变化不明显, 且酶活性很低; 在第 21 d 酶活性急速上升, 28 d 时达到峰值, 后 7 d 又急速下降, 其变化情况与尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UGPase)活性的变化情况相似. UGPase 酶活性大约是 AGPase 酶活性的两倍, 但 AGPase 和 UGPase 相比其他淀粉酶, 其酶活性极低, 由此可以推测 AGPase 和 UGPase 可能对青脆李中淀粉代谢的影响较小. α -淀粉酶(α -AL)的活性较高, 在 4 500 $\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 左右波动; β -AL 的活性也较高, 在 25 000 $\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 左右波动, 其活性几乎是 α -AL 的 5.5 倍. α -AL 在前期(0~7 d)酶活性持续上升, 与淀粉质量分数的变化趋势相近, 可能是由于 α -AL 为内切酶, 此时通过切割淀粉中的糖苷键将直链淀粉通过多步水解成葡萄糖和麦芽糖, 故 α -AL 的变化较大且活性较高; β -AL 的活性在中后期(21~35 d)的波动较 α -AL 剧烈, 故此时淀粉的水解转化可能是 β -AL 外切酶在起关键作用(图 5).

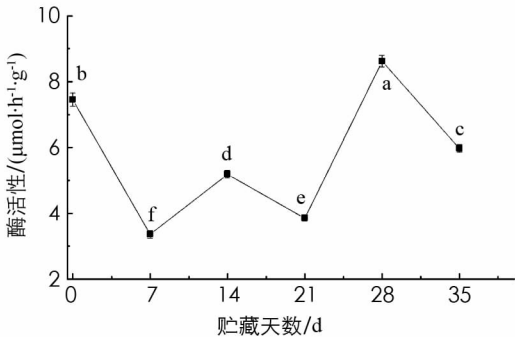


图中小写字母不同表示 $p<0.05$, 差异有统计学意义.

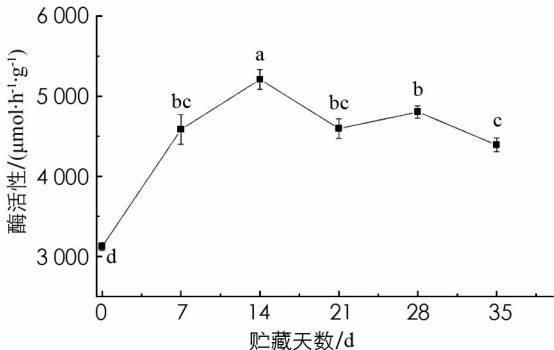
图 4 青脆李采后中性/碱性转化酶和酸性转化酶活性变化



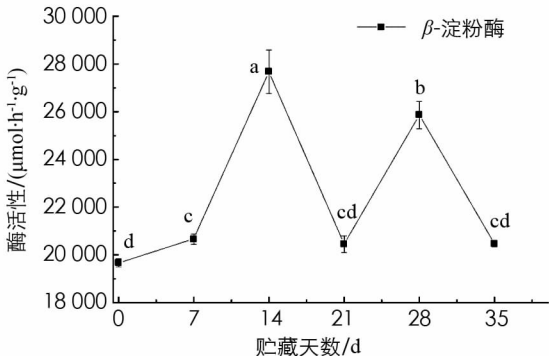
腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)活性变化



尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UGPase)活性变化



α -淀粉酶(α -AL)活性变化



β -淀粉酶(β -AL)活性变化

图中小写字母不同表示 $p<0.05$, 差异有统计学意义.

图 5 青脆李采后淀粉相关酶活性变化

2.4.3.2 青脆李果实中糖组分与淀粉相关酶活性的相关性

根据相关性分析可得, AGPase 和 UGPase 酶与 5 种糖的相关性均较低, 而 α -AL 活性与蔗糖质量分数和可溶性糖质量分数均呈极显著负相关, 相关系数为 -0.820 和 -0.767 ; 与葡萄糖呈极显著正相关, 相关系数为 0.768 . 由此证明淀粉主要转化成了葡萄糖, 同时也证明 α -AL 对可溶性糖的积累具有重要作用. AGPase 与 UGPase 酶活性的相关性极强, 相关系数为 0.746 ; α -AL 与 β -AL 的相关性也极强, 相关系数为 0.699 , 证明两者之间存在相互协同的作用(表 4).

表 4 青脆李果实中可溶性糖组分与淀粉相关酶活性的相关性

相关性	淀粉	山梨醇	蔗糖	果糖	葡萄糖	可溶性糖	腺苷二磷酸葡萄糖 糖焦磷酸化酶 (AGPase)	尿苷二磷酸葡萄糖 糖焦磷酸化酶 (UGPase)	α -淀粉 粉酶 (α -AL)	β -淀粉 粉酶 (β -AL)
腺苷二磷酸葡萄糖 糖焦磷酸化酶 (AGPase)	0.139	0.34	-0.066	-0.029	0.272	0.027	1			
尿苷二磷酸葡萄糖 糖焦磷酸化酶 (UGPase)	-0.133	0.138	0.418	0.462	-0.33	0.529*	0.746**	1		
α -淀粉酶(α -AL)	0.315	0.490*	-0.820^{**}	-0.373	0.768**	-0.767^{**}	0.213	-0.307	1	
β -淀粉酶(β -AL)	-0.085	0.178	-0.37	-0.188	0.367	-0.348	0.528*	0.281	0.699**	1

注: * 表示 $p<0.05$, ** 表示 $p<0.01$, 差异有统计学意义.

2.4.3.3 采后青脆李贮藏过程中山梨醇和山梨醇脱氢酶(NAD^{+} -SDH)活性的变化

山梨醇质量分数在 0~35 d 呈现稳定增长状态, 而 NAD^{+} -SDH 呈波动下降趋势, 在 0~7 d 内酶活性迅速下降, 7~14 d 内酶活上升, 14~28 d 又继续缓慢下降, 最后稍微回升, 但仍然低于刚采摘时的活性. 从相关性分析得出, 山梨醇与 NAD^{+} -SDH 呈极显著负相关, 相关系数为 -0.626 (图 6, 表 3).

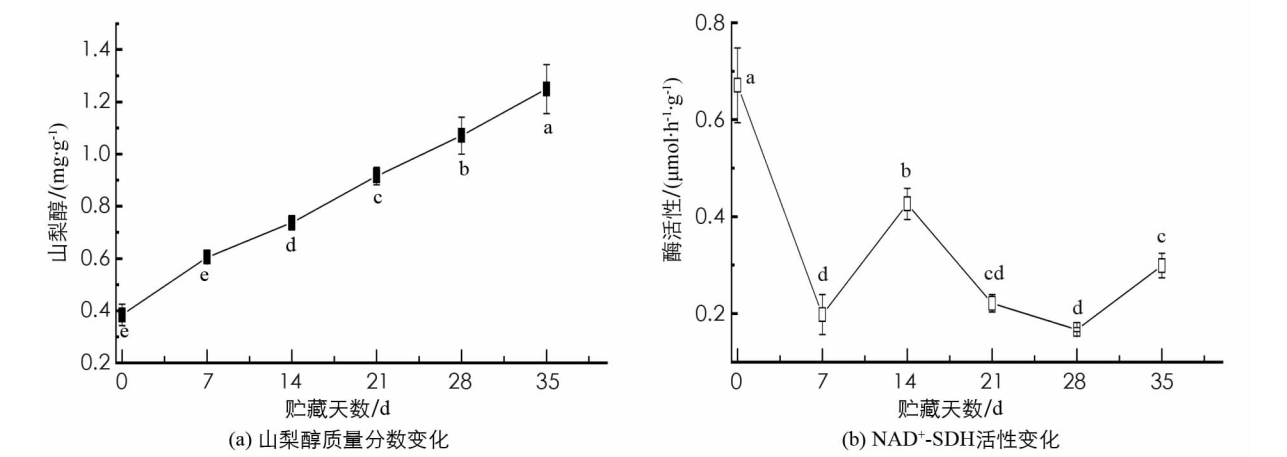


图 6 青脆李采后山梨醇和山梨醇脱氢酶(NAD^{+} -SDH)活性变化

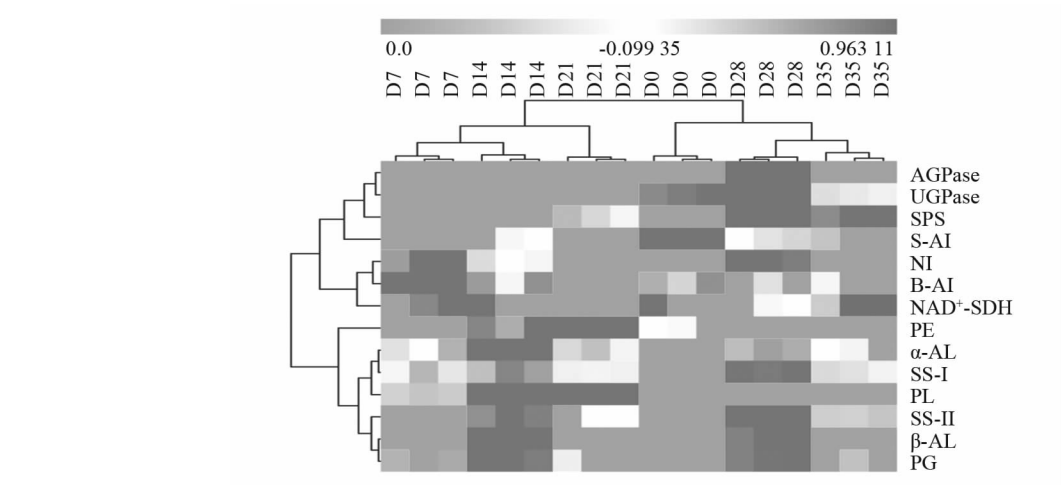
2.5 青脆李采后贮藏过程中糖代谢相关酶之间的响应关系

从图 7 的分阶聚类热图可以看出, 青脆李后熟过程主要在 2 个阶段:

第一个阶段为采摘后的第 7~21 d, 在这个时间段, 青脆李的糖组分主要以蔗糖、淀粉和山梨醇质量分数的增强与响应为主. 山梨醇代谢 NAD^{+} -SDH, 蔗糖代谢 S-AI, B-AI, NI, SPS 和淀粉代谢 AGPase 和 UGPase 共 7 种活性较强的糖代谢酶聚为一组. 在该阶段(7~21 d)青脆李糖的代谢特点: 催化蔗糖和山梨醇两种运转糖转化为单糖的反应较为活跃, 淀粉降解的代谢强度较高.

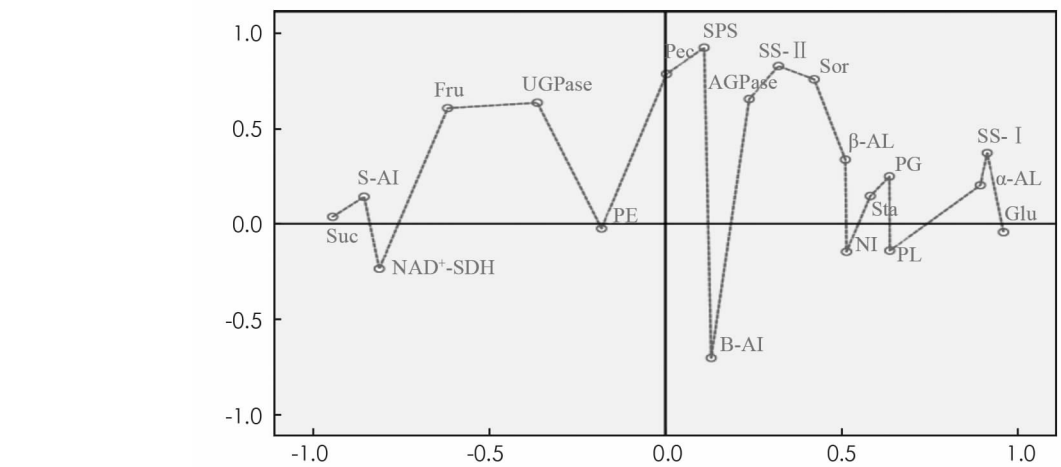
第二个阶段为采后冷藏第 28~35 d. 此时以蔗糖代谢、淀粉代谢和果胶代谢为主. 此阶段主要是调控 3 种果胶酶将原果胶转化成可溶性果胶, 从而导致青脆李软化; 平衡蔗糖和单糖之间动态消长的 SS-I 与 SS-II 可促进淀粉水解生成还原糖, 和 α -AL 与 β -AL 的活性同步增强. 图 8 显示, 贮藏期青脆李果实的糖组分和糖代谢在作为分析变量和补充变量时被分成 2 个维度, 其方差解释为 63.65%. 青脆李采后贮藏过

程中糖分的主成分依次按照葡萄糖、淀粉→蔗糖、果糖→果胶的顺序转化，主要以蔗糖转化为主。淀粉水解酶和蔗糖向葡萄糖和果糖转化酶的离散相关性较高，与分阶聚类结果一致。根据冷藏期间的糖组分和糖代谢酶的主成分分析结果可知，SS-I， α -AL 和 S-AI 主成分载荷系数最高。



AGPase 为腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶；UGPase 为尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶，SPS 为蔗糖磷酸合成酶，S-AI 为可溶性酸性转化酶，NI 为中性/碱性转化酶，B-AI 为细胞壁不溶性酸性转化酶，NAD⁺-SDH 为山梨醇脱氢酶，PE 为果胶酯酶，PL 为果胶裂解酶，PG 为多聚半乳糖醛酸酶； α -AL 为 α -淀粉酶， β -AL 为 β -淀粉酶，SS-I 为蔗糖合成酶分解方向，SS-II 为蔗糖合成酶合成方向。

图 7 青脆李采后果实可溶性糖代谢 14 种酶的分阶聚类热图



Fru 为果糖，Glu 为葡萄糖，Sor 为山梨醇，Sta 为淀粉，Suc 为蔗糖，Pec 为果胶。

图 8 青脆李采后贮藏过程中 6 种糖组分与 14 种糖代谢酶活性的主成分分析

3 讨论与结论

果实采后糖分和酶活性变化虽然不如生长发育期时活跃，但依然是生理活动重要的物质基础和风味品质变化的重要依据。本实验的结果表明：青脆李果实发育过程中以积累果胶和蔗糖为主，淀粉、葡萄糖和果糖的质量分数约占蔗糖的一半，且 3 种糖组分质量分数较接近，山梨醇质量分数极少。果胶质量分数呈现先上升后下降的趋势，表明果胶的代谢涉及多种酶类，其降解是由多种酶共同作用的结果。PG 活性在草莓、苹果、香蕉等水果成熟过程中与可溶性果胶呈正相关，PG 与溶质型桃果实的软化高度相关，内多糖半乳糖醛酸酶（Endo-PG）在溶质型桃中的表达量会随着软化进程的推进而显著升高^[21-23]。从青脆李采后果胶酶代谢的情况来看，果胶的代谢主要受 PG 的调控。

糖卸载到果实中在很大程度上取决于果实本身的“库”强大小，而其重要的生化标志就是关于糖代谢相关酶的活性。蔗糖转化酶可以在韧皮部卸载位点和库组织细胞之间创造蔗糖梯度，促进蔗糖的转运。本实

验的结果表明:青脆李果实在贮藏过程中蔗糖呈波动下降趋势,葡萄糖质量分数先上升后波动下降,果糖还原糖总体和山梨醇质量分数呈逐渐上升的趋势. 总体来看,可溶性糖质量分数还是呈逐渐递增的趋势,且青脆李果实在低温贮藏期间蔗糖质量分数的降低与葡萄糖质量分数的增加有明显的相关性,这与牛芳英等^[24]在研究马铃薯贮藏时糖代谢的实验结果相似. 究其原因可能是刚采摘下来时,果实中 S-AI 和 NI 的活性较高,催化蔗糖或者淀粉转化为葡萄糖,导致葡萄糖质量分数上升;而后在果实自身呼吸作用以及蔗糖代谢相关酶活性的作用下,果实中葡萄糖和蔗糖的质量分数均逐渐下降. 其次,蔗糖质量分数与 SS- I 呈极显著负相关,且 SS- I 的酶活性明显高于 SS- II 和 SPS,可溶性糖质量分数也与 SS- I 呈极显著负相关,葡萄糖质量分数与 SS- I 呈极显著正相关,证明 SS- I 是影响蔗糖合成的关键酶.

从相关性和酶活性来看,青脆李的可溶性糖代谢积累主要受 SS- I ,S-AI 和 α -AL 等酶的相互调节作用,这与苏艳等^[20]在草莓果实的发育过程中的研究结果一致;在杨祎等^[25]对草石蚕块茎的研究中同样如此,实验证明 SPS, SS 和 AI 是草石蚕块茎中糖积累的重要因子;但与常尚连等^[26]在西瓜中的研究结果恰好相反,西瓜果实中的 SPS 活性在蔗糖代谢中起关键作用,而蔗糖合成酶(SS)活性对蔗糖的积累作用较小. 虽然 NAD^+ -SDH 活性较小,但是与可溶性糖的质量分数呈极显著正相关,这是由于 NAD^+ -SDH 能够催化山梨醇与果糖及葡萄糖之间的相互转化. 该酶被认为在调控“库”强过程中起到了关键作用^[27],山梨醇转运蛋白有可能会受到葡萄糖和果糖的竞争性抑制. NAD^+ -SDH 催化山梨醇生成果糖的能力较强,对果糖积累的贡献相对更高,这可能是青脆李贮藏后期果实中果糖质量分数显著高于葡萄糖质量分数的原因之一^[28-29].

诸多研究证明,果实发育中的各种糖类的积累并不是单一类型酶在起作用,而是受各种相关酶的共同调控. 本研究对青脆李采后贮藏过程中果胶和可溶性糖的积累和积累过程中有关酶活性动态变化及主要调控酶进行了研究,但在分子水平上,对其糖代谢及其相关酶的研究尚不清楚. 今后,应当就有关青脆李糖代谢关键酶基因的调控以及糖信号对青脆李果实糖代谢的调控机制进行研究.

参考文献:

[1] 陈 嘉,张立新,冯志宏,等. 贮藏温度和 1-甲基环丙烯对四川青脆李褐变的影响 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 312-316, 323.

[2] 寇琳玲,曾卓华,熊 伟,等. 重庆市李产业发展现状与对策探讨 [J]. 中国果业信息, 2019, 36(11): 8-13, 34.

[3] 周丹蓉,廖汝玉,叶新福. 李果实氨基酸种类和含量分析 [J]. 中国南方果树, 2012, 41(2): 25-28.

[4] 黄展文,李明娟,游向荣,等. 李果采后生理及贮藏保鲜技术研究进展 [J]. 食品科技, 2021, 46(1): 27-32.

[5] 廖光联,钟 敏,黄春辉,等. 果实糖代谢及其相关酶基因研究进展 [J]. 江西农业大学学报, 2020, 42(1): 187-195.

[6] 刘松忠,刘 军,张 媛,等. 不同成熟期白梨品种糖酸质量分数及风味评价 [J]. 西北农业学报, 2015, 24(1): 97-102.

[7] 郭艳利,杨肖芳,蒋 黎,等. 蔗糖代谢相关酶与果实糖代谢 [J]. 现代园艺, 2012(9): 10-12.

[8] 刘旭东. *Bacillus sp.* YX-1 中温酸性 α -淀粉酶的分离纯化及基因克隆和表达的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2008.

[9] MEYER K, STECCA K L, EWELL-HICKS K, et al. Oil and Protein Accumulation in Developing Seeds is Influenced by the Expression of a Cytosolic Pyrophosphatase in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2012, 159(3): 1221-1234.

[10] 依 兵. 高粱子粒淀粉积累与合成相关酶活性研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014.

[11] 黄斌全. 玉米淀粉合成关键酶: AGPase 和 isoamylase 的功能研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2012.

[12] 陈乐天,王慧婷,韩靖鸾,等. 植物果胶裂解酶的研究现状及展望 [J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(5): 71-77.

[13] CHEA S, YU D J, PARK J, et al. Fruit Softening Correlates with Enzymatic and Compositional Changes in Fruit Cell Wall during Ripening in ‘Bluecrop’ Highbush Blueberries [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 245: 163-170.

[14] BRUMMELL D A, HARPSTER M H. Cell Wall Metabolism in Fruit Softening and Quality and Its Manipulation in Transgenic Plants [J]. Plant Molecular Biology, 2001, 47(1-2): 311-339.

[15] 刘 政,安莉园,林世华,等. 梨树山梨醇代谢及其调控因子研究进展 [J]. 中国南方果树, 2018, 47(4): 165-168.

[16] SHEN C, WANG J, SHI X, et al. Transcriptome Analysis of Differentially Expressed Genes Induced by Low and High Potassium Levels Provides Insight into Fruit Sugar Metabolism of Pear [J]. Frontiers in Plant Science, 2017(8): 938.

[17] 邓丽莉,生吉萍. 苹果果实糖代谢过程及其调控研究进展 [J]. 保鲜与加工, 2012, 12(1): 1-5, 11.

- [18] 张慧琴, 谢 鸣, 张 琛, 等. 猕猴桃果实发育过程中淀粉积累差异及其糖代谢特性 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(17): 3453-3464.
- [19] 黄艳花, 曾 明. 梨果实糖代谢及调控因子的研究进展 [J]. 植物生理学报, 2013, 49(8): 709-714.
- [20] 苏 艳, 原牡丹, 侯智霞, 等. 草莓果实发育中糖代谢规律研究 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39(4): 147-150.
- [21] MORGUTTI S, NEGRINI N, NOCITO F F, et al. Changes in Endopolygalacturonase Levels and Characterization of a Putative Endo-PG Gene during Fruit Softening in Peach Genotypes with Nonmelting and Melting Flesh Fruit Phenotypes [J]. The New Phytologist, 2006, 171(2): 315-328.
- [22] GHIANI A, ONELLI E, AINA R, et al. A Comparative Study of Melting and Non-Melting Flesh Peach Cultivars Reveals that during Fruit Ripening Endo-Polygalacturonase (Endo-PG) is Mainly Involved in Pericarp Textural Changes, not in Firmness Reduction [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(11): 4043-4054.
- [23] RUAN Y L. Sucrose Metabolism: Gateway to Diverse Carbon Use and Sugar Signaling [J]. Annual Review of Plant Biology, 2014, 65: 33-67.
- [24] 牛芳英, 王效瑜, 杨东宏, 等. 马铃薯贮藏期间几个主要加工品质指标变化的探讨 [J]. 陕西农业科学, 2008, 54(2): 18-20.
- [25] 杨 玮, 张素勤, 耿广东. 草石蚕发育过程中糖含量变化与相关酶活性的关系 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2015, 37(2): 32-38.
- [26] 常尚连, 于贤昌, 于喜艳. 西瓜果实发育过程中糖分积累与相关酶活性的变化 [J]. 西北农业学报, 2006, 15(3): 138-141.
- [27] IIDA M, BANTOG N A, YAMADA K, et al. Sorbitol- and other Sugar-Induced Expressions of the NAD⁺-Dependent Sorbitol Dehydrogenase Gene in Japanese Pear Fruit [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2004, 129(6): 870-875.
- [28] 梁 东. 苹果山梨醇代谢相关基因的分子特性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [29] ZHANG H P, WU J Y, TAO S T, et al. Evidence for Apoplasmic Phloem Unloading in Pear Fruit [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2014, 32(4): 931-939.

责任编辑 周仁惠