

葡萄浆果着色过程的解剖学研究

万怡震,贺普超

(西北农林科技大学园艺系,陕西杨凌 712100)

摘要:1998~1999年,通过外观观察及利用冰冻切片解剖法对葡萄属植物的12个种(其中10个种是起源于中国的野生种)的43个林系浆果着色过程进行了研究。结果表明,供试材料中的大多数种的浆果从果实顶部或向阳一侧开始着色,熟时果面色泽均匀一致。葡萄果实从表皮与下表皮相邻的几层细胞开始着色,表皮由内向外、下表皮由外向内的顺序着色;多数种的果实表皮细胞稍先于下表皮细胞开始着色。葡萄着色初期表现出不同层次色素细胞间及同一层不同部位的色素细胞间颜色深浅不一的不均衡性;葡萄果实着色过程体现为色素细胞数目不断增多及细胞内色素浓度不断增大的统一;色素细胞由个别出现色素到全体色素细胞都出现色素持续时间较短;就某一色素细胞而言,从其开始着色直到果实成熟色素浓度可能一直在增大,直到果实成熟时达最大。

关键词:葡萄;浆果;着色;色素细胞;解剖

中图分类号:S663.1;Q24 **文献标识码:**A **文章编号:**0578-1752(2001)02-0169-04

Anatomy of *Vitis* Berries During Their Coloring

WAN Yi-zhen, HE Pu-chao

(Dept. of Horticulture, Northwest Sci-Tech University of Agriculture
and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: During the 1998~1999, the course of berry coloration and development of the pigmented cells from coloring to ripeness were studied by the freeze-sectioning with 43 clones of 12 *Vitis* species (10 of them were Chinese wild species). Results of external observation showed that the berries of the most species began coloring from the fruit top surface or the sun-lit surface, and the berry surface color became even-distributed when the berry was ripe. Results of internal observation showed that the pigment cells in some layers between cuticle and sub-cuticle firstly colored, the cuticle colored from inner layers to outer layers while the sub-cuticle from outer to inner, and the cuticle cells began coloring a little earlier than the sub-cuticle ones of the most species. In the beginning of the berry coloring, the cell pigment concentrations among the layers or among the cells in the same layer were different. Both the numbers of the pigmented cells and the cell pigment concentrations increased during the berry coloring, while the former lasted a short time, however, the latter kept increasing from coloring to ripeness, and they reached the highest when the berry was ripe.

Key words: *Vitis*; Berry; Coloring; Pigment cell; Anatomy

色泽是葡萄浆果品质的一个重要指标^[1~3]。葡萄浆果着色机理是受葡萄学家重视的一个研究领域^[4]。由于葡萄浆果着色过程也即是其成熟软化的过程,加之色素易氧化褪色^[5,6],因而对葡萄浆果着色过程进行解剖研究一直是个难点,而且目前尚未见报道,本文作者在以前研究葡萄浆果解剖方法的

基础上^[7],于1998~1999年对葡萄属植物12个种的浆果着色过程进行了研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究于1998~1999年在西北农业大学进行。

收稿日期:2000-05-10

基金项目:国家自然科学基金项目资助(39370495)

作者简介:万怡震(1969-),男,江西新建人,讲师,博士生,主要从事葡萄种质资源与育种研究和果树学教学工作。Tel:029-7092716,7092428;
E-mail:yizhen@public.xa.sn.sn

研究材料均取自于西北农业大学果树站的葡萄园, 共计 12 个种的 43 个类型(或株系)。供试材料 12~14 年生, 单干篱架整形, 按常规管理。

1.2 试验方法

外观观察:从果实着色前开始, 选择发育良好的果穗 5~10 穗作标记, 每 3 天观察一次, 直至果实成熟。

解剖观察:供试材料的浆果, 从着色前 5d 采样一次, 开始着色至成熟期间每 3 天一次采样, 所有果实都放入超低温冰箱中进行预冻, 然后利用德国产 820 Histo STAT 分体手摇式旋转切片进行冰冻切片, 切片时温度为 -20℃, 厚度为 25~30μm, 封片剂为无水丙三醇。切片在 10×16 倍光学显微镜下观察, 利用 10×10 倍日本产 Olympus 显微镜及其

自动照相系统进行自动显微照相。

2 结果与分析

2.1 葡萄浆果着色外观特点

我们对葡萄着色过程进行了外观观察。从供试材料来看, 葡萄着色可以分为 3 种类型(表 1)。13 个种的 33 个株系(或品种)中有 10 个种的 28 个株系(或品种)着色特点为:果实顶部或向阳一侧先着色, 熟后面色泽均匀一致。因此, 这一特点代表了葡萄大多数种浆果着色特点。夔夔葡萄(泰山-1)果面从片状开始着色, 前人未有这方面报道。供试的欧美杂交品种果实成熟后果面色泽差异较大。

表 1 葡萄果面着色特点

Table 1 Coloring characteristics on *Vitis* berries surface

着色特点 Coloring characteristics	种(品种或株系) Species (cultivars or clones)	种(株系或品种)数 Numbers of species (clones or cultivars)
果实顶部或向阳一侧先着色 Berries began coloring on the fruit-top surface or on the sun-lit surface, and the berry surface color was even-distributed when the was ripe	欧洲葡萄(梅鹿特)、菱叶葡萄、小复叶葡萄(留-10、岚皋-2)、夔夔葡萄(安林)、刺葡萄(略阳-4、宁强-6)、秋复葡萄(平利-2、留坝-7)、山葡萄(左山-2、左山-74326、通化-3)、秋葡萄(平利-7、留坝-1、白河-22、平利-2、江西-1)、复叶葡萄(华-1、华县-1、留坝-6、留坝-8、留坝-9、甘肃-91) <i>V. vinifera</i> L. (Merlot), <i>V. hanckckii</i> Hance(-), <i>V. liubaensis</i> L. X. Niu (Liu ba-10, Lan' ao-2), <i>V. adstricta</i> Hance (Anlin), <i>V. davidii</i> (Roman) Foëx (Lueyang-4, Ningqiang-6), <i>V. sp</i> (Pingli-2, Liuba-2), <i>V. amurensis</i> Rupr. (Zuoshan-2, Zuoshan-74326, Tonghua-3), <i>V. romanetii</i> Roman (Pingli-7, liuba-1, Baihe-22, Pinli-2, Jiangxi-2), <i>V. piasezkii</i> Maxim (Hua-1, Huaxian-1, Liuba-6, Liuba-8, Liuba-9, Gansu-91)	9(23)
着色期间果点不明显 Stomata could not clearly be seen during berry coloring	毛葡萄(渭南-3、商南-24、泰山-12、83467、南郑-1) <i>V. quinquangularis</i> Reld (Weinan-3, Shangnan-24, Taishan-12, 83467, Nanzheng-1)	1(5)
着色期间果点明显, 熟后不明显 Stomata could clearly be seen, but not clearly be seen when berry was ripe	夔夔葡萄(泰山-1) <i>V. adstricta</i> Hance (Taishan-1)	1(1)
果面片状着色, 熟后果面色泽均匀一致 Several parts on the surface began coloring, the color was even-distributed when berry was ripe	刺葡萄(塘尾、雪峰)、华东葡萄(白河-13-1、广西-1) <i>V. davidii</i> (Roman) Foëx (Tangwei, Xuefeng), <i>V. pseudoreticulata</i> W. T. Wang (Baihe-13-1, Guangxi-1)	2(4)
果面同时着色, 熟后一致 Whole surface began coloring at the same time		

2.2 葡萄着色过程中色素细胞解剖特点

通过浆果解剖观察到, 葡萄果实一般由表皮与下表皮相邻的几层细胞先开始着色; 表皮由内及外、下表皮由外及内的顺序着色, 而且同一层细胞开始

着色也有先后。供试的 12 个种的 41 个品种或株系中有 8 个种的 29 个品种或株系的果实表皮细胞相对下表皮细胞先开始着色; 刺葡萄浆果下表皮细胞先开始着色; 小复叶葡萄、夔夔葡萄、华东葡萄表皮

细胞与下表皮细胞同时开始着色(表 2)。

我们还观察到,葡萄果实开始着色的表现是几个或几层细胞开始出现很浅的色素,逐渐所有色素细胞都出现很浅的色素,此时,多数果实不同层间或同一层内不同位置间的细胞色泽深浅不一(见图版-I),说明浆果始色时色素细胞发育具有不均衡性。此后的变化是,所有色素细胞的色泽在不断加深直

至浆果成熟时达最深。因此,葡萄果实着色在微观上是色素细胞数目增多及细胞内色素浓度不断增大的统一,而色素细胞由个别出现色素到全体都出现色素持续时间较短,但对同一个色素细胞来说,在果实整个着色及成熟过程中可能都存在着色物质合成,直至果实成熟时色素浓度达到最大。

表 2 葡萄果实着色解剖特点

Table 2 Coloring characteristics of *Vitis* berries by anatomy

浆果着色解剖特点 Berry coloring characteristics by anatomy	种(品种或株系) Species (cultivars or clones)	种(品种或株系)数 Numbers of species (cultivars or clones)
表皮与下表皮相邻几层细胞先开始着色,表皮由内皮及外、下表皮由外及内的顺序开始着色;同一层细胞着色也有先后 The pigment cells in a few layers between cuticle and sub-cuticle first colored, cuticle colored from inner layers to outer layers, while sub-cuticle colored from outer to inner. Pigment cells in the same layers colored one after another	欧洲葡萄(梅鹿特)、欧美杂种(巨峰、藤稜、康拜尔早生)、菱叶葡萄、秋复葡萄(平利-2、留坝-7)、山葡萄(左山-75097,左山-2、左山-74326、通化-3、双优、泰山-11)、秋葡萄(平利-7、留坝-1、白河-22、平利-2、江西-1)、毛葡萄(渭南-3、商南-24、泰山-12、83467、南郑-1)、复叶葡萄(华-1、华县-1、留坝-6、留坝-8、留坝-9、甘肃-91) <i>V. vinifera</i> L. (Merlot), <i>V. Labrusca</i> × <i>V. vinifera</i> (Koyho, Fujimori, Cambell Eearly) <i>V. hanckchii</i> Hance (-), <i>V. sp</i> (Pingli-2, Liuba-7), <i>V. amurensis</i> Rupr (Zuoshan-75097, Zuoshan-2, Zuoshan-74326, Tonghua-3, Shuangyou, Taisha-11), <i>V. romanetii</i> Roman (Pingli-7, Liuba-1, Baihe-22, Pingli-2, Jiangxi-1) <i>V. quinquangularis</i> Reld (Weinan-3, Shangnan-24, Taishan-12, 83467, Nanzheng-1), <i>V. piasezkii</i> Maxim (Hua-1, Huaxiang-1, Liuba-6, Liuba-8, Liuba-9, Gansu-91)	8(29)
下表皮细胞先开始着色,不久表皮细胞也开始着色 Sub-cuticle cells colored first, soon cuticle ones also began coloring	刺葡萄(略阳-4、宁强-6、塘尾、雪峰) <i>V. davidii</i> (Roman) Foëx (Lueyang-4, Ningqiang-6, Tangwei, Xuefeng)	1(4)
表皮及下表皮细胞同时开始着色 Both cuticle cells and sub-cuticle ones began coloring at the same time	小复叶葡萄(岚皋-2)、蔓萸葡萄(安林、泰山-1)、华东葡萄(白河-13-1、广西-1、白河-13、商南-1、湖南-1) <i>V. sp</i> (Lan'ao-2), <i>V. adstricta</i> (Hance) (Anlin, Taishan-1), <i>V. pseudoreticulata</i> W. T. Wang (Baihe-13-1, Guangxi-1, Baihe-13, Shuangnan-1, Hunan-1)	3(8)

3 讨论

葡萄色素合成是个复杂的问题。Boss P K 等^[8]认为,葡萄浆果中的花色苷的合成及其调控涉及到 7 种酶:苯丙氨酸解氨酶(PAL),苯基苯乙烯酮合成酶(CHS),苯基苯乙烯异构酶(CHI)、黄烷醇-3-羟基化酶(F3H)、4-脱氢黄烷醇还原酶(DFR),无色花色苷脱氧酶(LDOX)、UDP·葡萄糖-类黄酮·3-D-葡萄糖苷转移酶(UFGT),花色苷在葡萄浆果中的合成与少数几个基因表达或表达量增加有关,这几个基因可以看作是控制基因,而且控制 UFGT 酶

表达的基因可能是控制花色苷生物合成的关键基因。赵宗方等^[9]认为,巨峰葡萄果实只有还原糖含量达到 10.2% 时才开始着色。葡萄浆果着色受体内外源激素的影响也很大,内源 ABA 水平是启动果实进入始熟期的信号,果实内生长素水平降低是浆果着色的根本原因^[10,11]。黄卫东等^[4]在总结前人大量资料基础上,详细论述了光照对葡萄色素合成的影响。他们认为,光通过诱导光敏色素启动增加 CHS、CHI、F3H、DFR、LDOX 及 UFGT 基因的转录,从而影响花色苷的合成。

我们观察到,大多数葡萄果实从受光照的一面

先开始着色,因而光可能是启动葡萄开始着色的信号之一,巨峰、藤稔及康拜尔早生等欧美杂交品种果实着色受气候因子变化较大,多年观察到这两个品种浆果成熟时果柄处的果面着色浅或不着色,而绝大多数野生种及一些欧洲酿酒品种多年观察到果面着色均匀。因此,光可能对一些欧美杂交品种果实的色素合成过程影响较大,而对多数野生种及一些欧洲酿酒品种影响较小。葡萄果实始色时,表现为表皮与下表皮交界处的几层细胞先开始着色,表皮由内向外、下表皮由外向内的顺序发展。如果我们上文的观点成立,我们可以对这一现象作如下解释:表皮细胞结构由内向外越来越趋于特化,到果实最外层特化为厚角的角质层起保护作用,表皮细胞由内层向外层细胞壁逐渐增厚、原生质变少及酶系统逐渐不发达,因而表皮内层较外层对启动始色的光信号更为敏感,所以,表皮始色是由内向外发展;对于下表皮,其细胞结构特点差不多,但由于下表皮外层较内层从位置上有利于先接受光信号,或外层比内层接受光信号的酶系统相对发达,因而下表皮由外向内的顺序始色。

正因为表皮较下表皮接受光信号位置在先,因而大多数葡萄果实表皮较下表皮先始色(见图版-I)。如果表皮细胞壁很厚,结构特化严重或酶系统不发达,如刺葡萄果实,则会出现下表皮先始色(见图版-I),如果表皮的位置优先始色效应与其细胞结构造成的滞后始色效应相抵消,则表皮、下表皮会同时始色如华东葡萄及夔夔葡萄果实即如此(表2)。生物的基因表达具有时空顺序性^[12],本研究从细胞水平上阐述了葡萄浆果内色素细胞在时间和空间上的发育顺序,这为分子生物学进行更深入的研究也提供了参考。

4 结论

4.1 葡萄绝大多数种从果实顶部或果面向阳一侧先开始着色,野生种及供试的欧洲酿酒品种成熟后果面色泽均匀一致,而欧美杂交品种如巨峰、藤稔成熟后果柄处的果面着色浅或不着色。

4.2 葡萄果实从表皮与下表皮交界的几层细胞先开始着色,表皮由内向外、下表皮由外向内的顺序发展。葡萄多数种果实表皮较下表皮稍先开始着色。浆果始色时色素细胞发育表现出不均衡性。葡萄着色过程是色素细胞数目增多及细胞内色素浓度不断增大的统一,前者持续时间较短,而后者在浆果整个着

色及成熟过程都在增大直至浆果成熟时达到最大。

References:

- [1] He P C. Viticulture[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999. (in Chinese)
贺普超. 葡萄学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [2] Li H. Modern Enology[M]. Xi'an: People's Press of Shaanxi, 1995. (in Chinese)
李华. 现代葡萄酒工艺学[M]. 西安: 陕西人民出版社, 1995.
- [3] Li J M, He P C. Study on important wine making quality character of Chinese wild *Vitis* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2000, 33(1): 17-23. (in Chinese)
李记明, 贺普超. 中国野生葡萄重要酿酒品质性状的研究[J]. 中国农业科学, 2000, 33(1): 17-23.
- [4] Huang W D, Yuan Y B, Peng Y B. Fruiting physiology of temperate fruit-trees[J]. Beijing: Press of Beijing Agricultural University, 1994. (in Chinese)
黄卫东, 原永兵, 彭宜本. 温带果树结实生理[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994.
- [5] Harbone J B. Flavone Compounds[M]. Translated by Dai L K, Xie R Y, Beijing: Science Press, 1983. (in Chinese)
Harbone J B. 黄酮类化合物[M]. 戴伦凯, 谢如玉译, 北京: 科学出版社, 1983.
- [6] Goodwin T W, Mercer E I. Introduction of Plant Biochemistry[M]. Translated by Clerks of Researches and Education of Physiology and Biochemistry of Northwestern Agricultural University, Xi'an: Tianze Press, 1988. (in Chinese)
Goodwin T W, Mercer E I. 西北农业大学生理生化教研室译, 植物生物化学导论[M]. 西安: 天则出版社, 1988.
- [7] Wan Y Z, He P C, Ge X R, et al. A study on the methods of slicing *Vitis* berry by hand[J]. Acta University Agriculturae Boreali-Occidentalis, 1999, 27(1): 64-67. (in Chinese)
万怡震, 贺普超, 葛秀荣, 等. 葡萄果实徒手切片方法的研究[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(1): 64-67.
- [8] Boss P K, Davies C, Robinson S P. Analysis of the expression of anthocyanin pathway gene in developing *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries and the implication for pathway regulation [J]. Plant-Physiology (USA), 1996, 111(4): 1059-1066.
- [9] Zhao Z F, Song T H, Gao H S. Some rules of oenin development of Jufeng grape fruits[J]. Journal of Jiangsu Agricultural College, 1989, 10(4): 17-21. (in Chinese)
赵宗方, 宋亭华, 高红胜. 巨峰葡萄色素发育若干规律[J]. 江苏农学院学报, 1989, 10(4): 17-21.
- [10] Zhang D P, Xu X F, Zhang Z L, et al. Studies on the veraison mechanism: physiological and biochemical responses of grape berries to exogenous hormone treatment and girdling during the lag phase of berry growth[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1997, 24(1): 1-7. (in Chinese)
张大鹏, 许雪峰, 张子连, 等. 葡萄果实始熟机理的研究——缓慢生长期外施激素和环剥的效应[J]. 园艺学报, 1997, 24(1): 1-7.
- [11] Kiataoka I, Nakatoh Y. Distribution of anthocyanin in epidermal cells of grape berries [R]. Technical Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kiagawa University, 1996, 48(1): 25-32.
- [12] Yan L F, Zhang Y L. Molecular Biology[M]. Beijing: Press of China Agricultural University, 1997. (in Chinese)
阎隆飞, 张玉麟. 分子生物学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1997.