

研究论文

链霉素在葡萄果粒中的残留分析及 膨大剂的处理效果^①

^{1,2} 施莉莉 ¹ 董秋洪 ¹ 王世平^②

¹ (上海交通大学农业与生物学院 上海 201101)

² (上海市花卉育种中心 上海 200072)

摘要 以12年生‘玫瑰香’葡萄为实验材料,探讨了无核诱导剂(链霉素)在果实中的残留及对无核果粒的膨大的影响。结果表明,于盛花前3 d用赤霉素50 mg·L⁻¹+链霉素400 mg·L⁻¹的混合液浸蘸花穗,无核率达96%。果粒中链霉素的残留量在浸蘸10 d后即下降到处理日的1/10,到成熟时不足1 mg·kg⁻¹。应用数学灰色系统理论分析表明, CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹、GAs 100 mg·L⁻¹、GAs 50 mg·L⁻¹和CPPU 5 mg·L⁻¹在盛花后2周浸蘸无核处理过的‘玫瑰香’果穗,无核果粒的膨大及品质良好。

关键词 葡萄, 链霉素, 残留量, 果实品质

Residue of Streptomycin in Berry and the Effect of Expanding Reagents on Berry Quality in ‘Muscat Hamburg’ Grape

^{1,2} SHI Li-Li ¹ DONG Qiu-Hong ¹ WANG Shi-Ping^②

¹ (College of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101)

² (Ornamental Plants Breeding Center, Shanghai 200072)

Abstract 12-year-old ‘Muscat Hamburg’ grape was used as a experimental material to study the enlargement effect of streptomycin on seedless berry and its residue in fruit. The results indicated that the rate of seedless was up to 96% if the clusters of flowers were soaked with mixture of GAs 50 mg·L⁻¹ and streptomycin 400 mg·L⁻¹ before 3 days when the flowers is blooming fully. The residual amount of streptomycin in fruit at the tenth day after treatment decreased as 10% as that of beginning, and less than 1 mg·kg⁻¹ when the fruit matured. Date analysis on the base of the gray system theory indicated that fruit was enlarged and its quality was improved when ‘Muscat Hamburg’ was soaked with CPPU 5 mg·L⁻¹ and GAs 50 mg·L⁻¹, GAs 100 mg·L⁻¹ or GAs 50 mg·L⁻¹ and CPPU 5 mg·L⁻¹ 2 weeks after full blooming fully.

Key words Grape, Streptomycin, Residue, Berry quality

无核葡萄食用时无吐籽的烦琐,深受消费者的欢迎,是近代葡萄的消费趋势(张维锋和

①上海市教委《曙光计划》资助项目。

②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: rosyshine@elong.com

收稿日期: 2003-07-09 接受日期: 2004-03-15 责任编辑: 白羽红

李言元, 1996)。用赤霉素 (GA_3) 诱导有核品种的无籽化生产, 已于 1957 年在日本山梨县的 ‘玫瑰露’ 葡萄上取得成功 (贺普超, 1999), 并在 ‘先锋’ (Pione)、‘蓓蕾葡萄 A’ (Muscat berry A) 等葡萄品种上得到成功应用 (严大义和才淑英, 1997)。但这一技术有两个缺点: 一是对欧亚种葡萄效果差, 二是赤霉素价格昂贵, 在我国葡萄价格较低的情况下, 难以推广 (陶俊等, 1998)。我们开发出了以赤霉素和链霉素为主要成分的诱导葡萄无核结实的无核剂。赤霉素为植物内源激素, 其安全性是国际上公认的, 但链霉素在果实中的残留量及其安全性会引起消费者的担忧, 因此分析链霉素在果实中的残留动态是十分必要的。

无核葡萄果粒偏小, 通过外源激素的应用是促进其膨大的主要途径 (陈田文, 2000)。本实验研究了不同浓度的 CPPU、 GA_3 和对氯苯氧乙酸 (PCPA) 对 ‘玫瑰香’ 无核果粒的膨大效果及品质的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

采用上海交通大学农业与生物学院葡萄园 12 年生管棚栽培的 ‘玫瑰香’ 葡萄为材料。树型为 “T” 形整型, 发芽后新梢水平牵引至两侧, 水肥等管理按葡萄园的常规管理方法进行。

1.2 方法

1.2.1 无核剂在果实中的残留分析 开花前 3 d (2002 年 5 月 10 日) 用 $400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 链霉素 + $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA_3 溶液浸蘸处理 ‘玫瑰香’ 100 穗诱导其无核, 浸蘸时间为每个花穗 30 s, 选择 10 个果穗作为对照。处理后 0 d (当日)、10 d、30 d、60 d 及成熟采收时采集幼果 5~30 g, 在 -20°C 下速冻冷藏备用。取出冷冻样品, 溶化后研碎取汁, $10\,000\text{ r/min}$ 下离心 5 min, 取上清液作为样品粗提液。

取琼脂 2 g, 加水 100 mL, 加热熔化, 冷却至 65°C 左右后, 取 15 mL 并加入一定浓度的枯草杆菌 ATCC 的悬液 1 mL ($1 \times 10^7\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$), 充分混匀后, 注入 $90\text{ mm} \times 15\text{ mm}$ 灭菌培养皿中均匀分布, 凝固后每皿打直径 4 mm 的微孔 7 个。精确配制浓度为 2、4、8、16、32、64、128 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的链霉素标准溶液, 各取 15 μL 分别注入上述培养皿中的培养基微孔中, 在 37°C 的生化培养箱中避光培养 18 h。测定微孔外侧抑菌圈的直径, 用抑菌圈的直径对标准溶液浓度作对数图, 进行回归处理后得到回归方程为:

$$\lg C = 0.3102D - 0.3045 \quad (\text{其中 } C \text{ 为链霉素的浓度, } D \text{ 为微孔抑菌圈的直径, } r = 0.9982 (n = 2))。$$

取样品粗提液 15 μL , 注入上述培养基微孔中, 取标准溶液用同样的方法培养, 测定微孔外侧抑菌圈的直径, 由标准曲线的函数式求得链霉素的浓度 (处理后 30 d、60 d 和采收当日的样品, 由于链霉素含量极低, 进样量调整为 30 μL)。

1.2.2 无核果粒膨大技术研究 于开花后 2 周用表 1 所示的化合物和浓度浸蘸果穗, 浸蘸时间为 30 s。并于开花后 39 d 开始采集经处理的果粒, 每周 1 次, 每次 30~40 粒。调查果粒的无核率和果汁可溶性固形物含量 (TSS)。取 1 cm^2 果皮圆片 6 枚, 加 1% 盐酸丙酮溶液置 300 转/分摇床震荡提取 3 h, 在 535 nm 波长下测定吸光度作为花青素含量。用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 中和滴定测定酸含量。

1.2.3 数据分析 所有处理都通过 F 测验和最小显著差数法作多重比较确定差异显著性。以

表 1 ‘玫瑰香’无核果粒膨大处理

Table 1 Treatments of expanding seedless berries

处理试剂 Compound	浓度 Concentration ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
A: CPPU	5
B: CPPU	10
C: GAs	50
D: GA ₃	100
E: PCPA	5
F: PCPA	10
G: CPPU+GAs	5+25
H: CPPU+GAs	10+50
I: CPPU+GAs	5+50
J: CPPU+GA ₃	10+25

单粒重、果皮花青素、果汁 TSS 和可滴定酸作为综合评价因素,应用数学灰色系统理论评价处理的综合效果(郁建强等,1999)。

2 结果与分析

2.1 无核处理后的葡萄无核率和果粒种子数

表 2 表明,用链霉素 $400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +GA₃ $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浸蘸‘玫瑰香’花穗后,‘玫瑰香’葡萄的完全无核率达到了 94%,退化核率为 2%,无核率为 96%。可见,这一药剂组合诱导‘玫瑰香’葡萄的无核有显著的效果。

2.2 无核剂在‘玫瑰香’果粒中的残留分析

由图 1 可知,链霉素处理开花前 3 d 的‘玫瑰香’的花穗后,果粒(小花)中链霉素的浓度急剧降低,10 d 后约为处理当日的 1/10。其后随着果粒的发育,链霉素的浓度继续

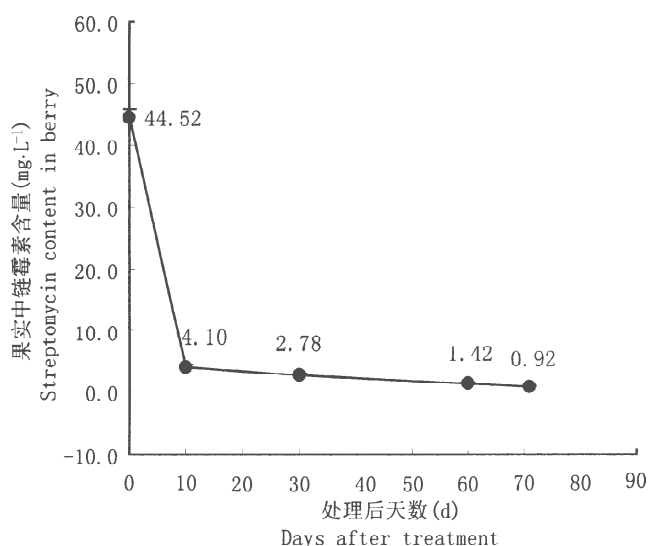


图 1 ‘玫瑰香’葡萄果实中链霉素的含量动态变化

Fig.1 Dynamics of streptomycin contents in berry of ‘Muscat Hamburg’ grape

表2 无核剂处理对果粒无核率和种子数的影响*

Table 2 Effects of seedless-inducing reagents on ratio of seedlessness and number of seeds in berry								
品种 Variety	调查果粒数 Number of investigated seeds	完全无核 Complete seedlessness (%)	退化核 Aborted seed (%)	无核率 Seedless- ness (%)	有核果粒数 Number of seed per berry			
					1粒种子 2粒种子 合计 与对照比			
					One seed	Two seeds	Total	CK (%)
‘玫瑰香’ ‘Muscat Hamburg’	15	94	2	96	2	2	6	26.1
Control	15	0.0	0.0	0.0	7	8	23	100.0

*开花前3 d用链霉素400 mg·L⁻¹+GA₃ 50 mg·L⁻¹浸蘸花穗。
*Dip flower clusters with streptomycin 400 mg·L⁻¹+GA₃ 50 mg·L⁻¹ 3 days before flowering.

降低，采收时果汁中的链霉素浓度已不足1 mg·L⁻¹。链霉素为医用抗生素类化合物，据1995年版《中国药典》记载，一个60 kg体重的成人每天的最大使用剂量为0.5 g，相当于本实验中无核化‘玫瑰香’葡萄543.5 kg果粒中的链霉素含量。也即一个成人每日消费543.5 kg的链霉素诱导的无核葡萄，才相当于一天的链霉素最大医疗使用剂量。可见链霉素在果粒中的残留是安全的。

2.3 膨大剂对果实品质的影响

2.3.1 单粒重 图2表明，‘玫瑰香’无核果粒，经C (GAs 50 mg·L⁻¹)、D (GAs 100 mg·L⁻¹) 膨大处理后果粒单粒重极显著大于对照（有核果粒）(P < 0.01)。A (CPPU 5 mg·L⁻¹)、B (CPPU 10 mg·L⁻¹)、E (PCPA 5 mg·L⁻¹)、F (PCPA 10 mg·L⁻¹)和I (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)处理与对照（有核果粒）接近，而H (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹) 和J (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹)各处理膨大效果不佳，果粒重量极显著小于对照 (P < 0.01)。

2.3.2 果皮花青素含量 如图3所示，经膨大剂处理后，在果实采收时，即盛花后74 d，

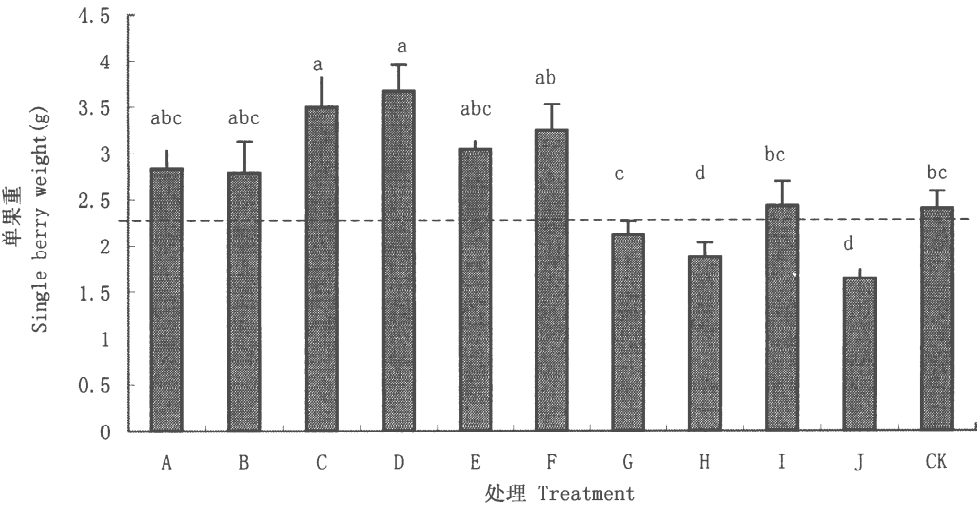


图2 膨大剂处理对‘玫瑰香’单果重的影响

A~J 见 2.3.1 文。小写字母表示经 F 测验后以最小显著差数法作多重比较的结果。

Fig.2 Effects of expanding reagents on the berry weight in ‘Muscat Hamburg’ grape

A~J to see 2.3.1. Small letter shows the results gotten by multiple comparison after F test.

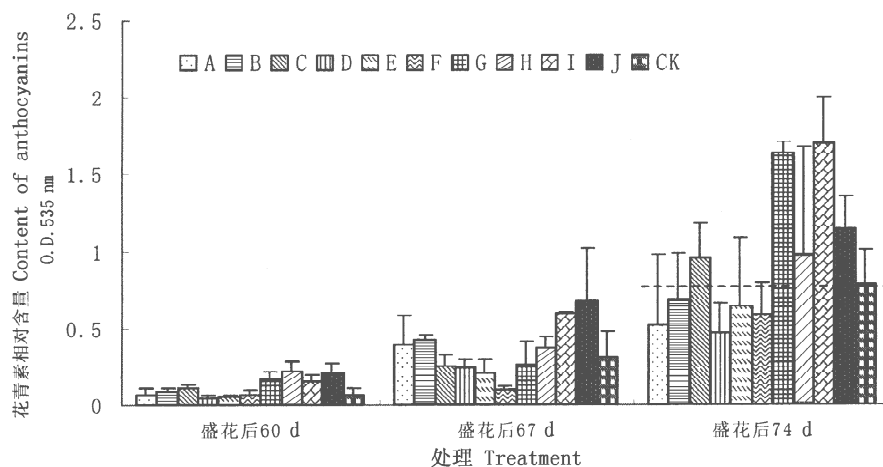


图3 膨大剂对‘玫瑰香’果皮花青素含量的影响

Fig.3 Effects of expanding reagents on anthocyanins accumulation in peel of ‘Muscat Hamburg’ grape

果皮花青素含量因处理而异，G (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹)、I (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)处理显著高于对照 ($P < 0.05$)；而C (GAs 50 mg·L⁻¹)、H (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)及J (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹)处理与对照接近；A (CPPU 5 mg·L⁻¹)、B (CPPU 10 mg·L⁻¹)、D (GAs 100 mg·L⁻¹)、E (PCPA 5 mg·L⁻¹)及F (PCPA 10 mg·L⁻¹)低于对照但与对照无统计学上的显著性差异。

2.3.3 可溶性固形物含量 图4表明，各处理果汁可溶性固形物含量均高于对照，其中H (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)和I (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)处理极显著高于对照 ($P < 0.01$)；D (GAs 100 mg·L⁻¹)处理显著高于对照 ($P < 0.05$)；其余处理均与对照接近。

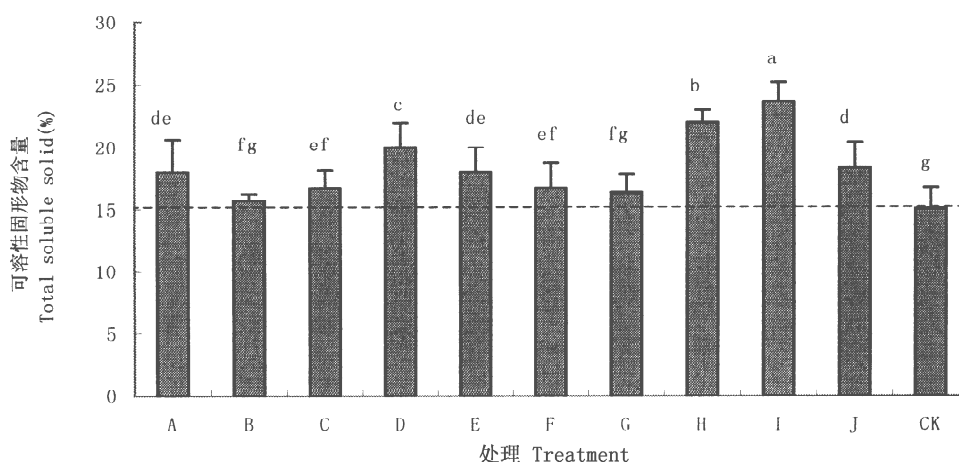


图4 膨大剂对‘玫瑰香’果汁可溶性固形物含量的影响

A~J 见 2.3.3 文。小写字母表示经 F 测验后以最小显著差数法作多重比较的结果。

Fig.4 Effects of expanding reagents on total soluble solid in fruit juice of ‘Muscat Hamburg’ grape
A~J to see 2.3.3. Small letter shows the results gotten by multiple comparison after F test.

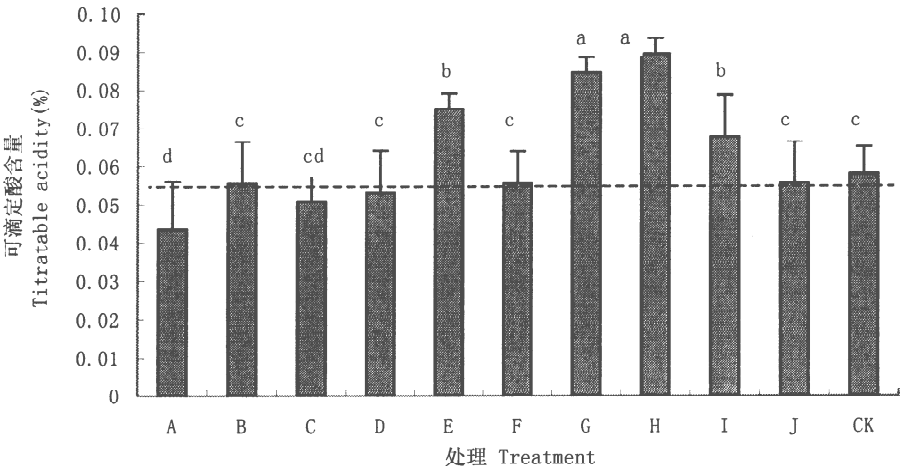


图5 膨大剂对‘玫瑰香’果汁滴定酸含量的影响
A~J 见 2.3.4 文。小写字母表示经 F 测验后以最小显著差数法作多重比较的结果。
Fig.5 Effects of expanding on titratable acidity in ‘Muscat Hamburg’ grape
A~J to see 2.3.4. Small letter shows the results gotten by multiple comparison after F test.

2.3.4 可滴定酸 膨大剂处理后，果汁可滴定酸含量如图 5 所示，G (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹)和H (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹) 处理极显著的高于对照 ($P < 0.01$)；E (PCPA 5 mg·L⁻¹)和I (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)处理显著高于对照 ($P < 0.05$)，除 A (CPPU 5 mg·L⁻¹)处理极显著小于对照外，其余处理与对照无显著性差异。

2.3.5 糖酸比 由图 4 和图 5 数据计算可得果汁糖酸比（资料数据省略）。与对照相比，A (CPPU 5 mg·L⁻¹)、B (CPPU 10 mg·L⁻¹)、C (GAs 50 mg·L⁻¹)、D (GAs 100 mg·L⁻¹)、F (PCPA 10 mg·L⁻¹)、I (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)和 J (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹)处理高于对照，表明这些处理改善了品质。而 E (PCPA 5 mg·L⁻¹)、G (CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹) 和 H (CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹) 处理要低于对照。

2.3.6 综合效果分析 应用灰色系统理论关联度分析法通过计算可得供试处理与理想处理的

表3 供试处理与理想处理的关联度及关联序
Table 3 Related degrees and related orders in experimental and ideal treatment

处理 Treatment	加权关联度 Weighted related degree	
	关联度 Related degree	关联序 Related order
X _A	0.677	4
X _B	0.608	8
X _C	0.731	3
X _D	0.755	2
X _E	0.615	7
X _F	0.648	5
X _G	0.640	6
X _H	0.593	9
X _I	0.786	1
X _J	0.448	11
X _{CK}	0.576	10

关联系数。供试处理与理想处理的关联度及其排序如表 3。

按照灰色系统理论关联分析原理, 关联度大的数列与理想处理的数列最为接近。由表 3 可知, 各处理关联度依次为 $X_I > X_D > X_C > X_A > X_F > X_G > X_E > X_B > X_H > X_{CK} > X_J$ 。I(CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)的关联度最大, 为 0.786 与理想处理最为接近, 综合性状表现最好。此评价结果与试验中各处理实际表现相吻合。

3 讨论

链霉素是一种微生物制剂。本实验表明, 它运用于葡萄有良好的无核效果, 价格又比较便宜, 有很好的应用前景。链霉素的作用机制与赤霉酸不同, 赤霉酸是通过抑制花粉管在子房中的伸长, 进而使受精过程不能完成而实现无核的, 但链霉素是通过抑制细胞分裂, 使种子败育而形成无核的。众所周知, 链霉素与青霉素同属于抗生素类药剂(钱之玉, 2000), 该药对第八对颅神经和肾脏可能产生损害, 其毒性反应与剂量大小、用药时间和个体差异等因素密切相关, 长期或大量应用易引起眩晕、恶心、呕吐、耳鸣及听力减退, 也可出现口唇、面部及指端麻木(严崇荣, 1996)。作为无核剂应用后, 是否会对人体健康造成威胁是很关键的问题。本实验结果很明显地表明, 链霉素处理开花前 3 d 的‘玫瑰香’的花穗后, 当天果粒中链霉素的浓度急剧降低, 10 d 后约为处理当日的 1/10。其后随着果粒的发育, 链霉素的浓度继续降低, 采收时果粒中的链霉素浓度已不足 1 mg·L⁻¹。据《中国药典》(1995 年版)记载, 注射用硫酸链霉素的日最大剂量为 0.6 EU, 即体重为 60 kg 的成年人, 每日可接受链霉素的剂量为 0.5 g, 只要不高于 0.5 g, 对人体的健康不会构成威胁(李勇军等, 2000)。也就是说, 这一标准是采收时果粒中链霉素浓度的 500 倍。可见链霉素在果粒中的残留不足以给消费者的健康带来危害。

权衡各个指标, 对于‘玫瑰香’葡萄来说, I(CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)、C(GAs 50 mg·L⁻¹)、D(GAs 100 mg·L⁻¹)和 A(CPPU 5 mg·L⁻¹)处理效果比较理想, 其次为 F(PCPA 10 mg·L⁻¹)、G(CPPU 5 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹)、E(PCPA 5 mg·L⁻¹)、B(CPPU 10 mg·L⁻¹)、H(CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 50 mg·L⁻¹)处理。J(CPPU 10 mg·L⁻¹+GAs 25 mg·L⁻¹)处理效果在 10 种处理中为最差。

参 考 文 献

- 严大义, 才淑英编著, 1997. 葡萄生产技术大全. 北京: 中国农业出版社, 57~96
- 严崇荣, 1996. 链霉素的不良反应及其对策. 临床荟萃, 11(4): 148~150
- 李勇军, 胡昌勤, 金少鸿, 2000. 四国药典抗生素品种细菌内毒素限值的比较. 中国药事, 14: 110~111
- 郁建强, 蔡云霞, 殷绒一, 1999. 灰色系统理论在平菇菌丝(品种)综合评价中的应用. 上海农业学报, 15(1): 87~90
- 张维锋, 李言元, 1996. 用赤霉素、链霉素生产无籽巨峰葡萄技术. 北方果树, 4: 43
- 贺普超主编, 1999. 葡萄学. 北京: 中国农业出版社, 244~245
- 陈田文, 2000. 葡萄膨大剂、赤霉素和保鲜防落剂处理葡萄果穗的效应. 中国南方果树, 3: 38
- 钱之玉主编, 2000. 药理学. 北京: 中国医药科技出版社, 201~202
- 陶俊, 李国祥, 陈扣宏, 1998. 赤霉素、链霉素促进巨峰葡萄无核早熟技术研究. 落叶果树, 4: 6~7