

甜高粱茎秆不同节间糖分累积与相关酶活性的变化

刘洋, 赵香娜, 岳美琪, 顿宝庆, 张保明, 路明, 李桂英

(中国农业科学院作物科学研究所/生物质能源研究中心/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081)

摘要: 为了进一步了解甜高粱茎秆糖分代谢的规律, 利用高效液相色谱等方法测定了考利、拉马达和 MN-2747 等 3 个甜高粱品种成熟期 6 个节间果糖、葡萄糖和蔗糖含量以及中性转化酶(NI)、可溶性酸性转化酶(SAI)、蔗糖磷酸合成酶(PS)和蔗糖合成酶(SS)的酶活性, 并对其变化规律和相关性进行了分析。结果表明: 不同品种间, 果糖、葡萄糖和蔗糖含量变化范围较大, 分别为 2.32~4.34 mg/g、2.30~4.14 mg/g 和 35.92~95.92 mg/g。随着节间的变化, 3 个品种果糖和葡萄糖均呈现“U”型变化趋势, 而蔗糖无明显变化规律, 只是略有增高的趋势。3 个品种成熟期茎秆中 NI、SAI、PS 和 SS 酶活性普遍较低, 随着节间的提高均呈现降低的趋势。节间蔗糖含量与 SAI 酶活性呈显著负相关($R = -0.71, P < 0.01$), 与 NI、PS 和 SS 酶活性无明显相关性。SAI 可能为甜高粱茎秆糖分代谢的关键调控酶。

关键词: 甜高粱; 蔗糖累积; 转化酶; 蔗糖磷酸合成酶; 蔗糖合成酶

Sugar Metabolism and Change of Related Activities of Enzymes in Internodes of Sweet Sorghum

LIU Yang, ZHAO Xiang-na, YUE Mei-qi, DUN Bao-qing, ZHANG Bao-ming,

Lu Ming, Li Gui-ying

(National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/ Research Center for Biomass Energy / Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: In order to understand sugar metabolism in stalk of the sweet sorghum, content of glucose, fructose and sucrose and the activities of neutral invertase (NI), soluble acid invertase (SAI), sucrose phosphate synthase (SPS) and sucrose synthase (SS) from six internodes of Cowley, Ramada and MN-2747 sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cultivars were assayed. The results showed that the content of fructose, glucose and sucrose were significantly different within three cultivars, were 2.32–4.34 mg/g, 2.30–4.14 mg/g and 35.92–95.92 mg/g respectively. Content of fructose and glucose showed a “U” type trend and content of sucrose had no significant changes, only a slight increase, with the internodes number. Enzyme activities of NI, SAI, SPS and SS in mature stem were generally low, and showed a decreasing trend with the internodes number. It was negatively correlated between sucrose content and SAI activity ($R = -0.71$), and no relationship with NI, SPS and SS activity in individual internodes. SAI might be a key enzyme controlling sugar metabolism in the sweet sorghum stalk.

Key words: Sweet sorghum; Sucrose accumulation; Invertase; Sucrose phosphate; Sucrose synthase

甜高粱为粒用高粱的一个变种, 其茎秆富含糖分, 可用作糖浆、饲料和燃料乙醇的生产^[1]。近年来, 其作为一种高效的能源作物而受到广泛重

视^[2]。甜高粱茎秆中主要是蔗糖^[3], 不同品种的糖分含量差异明显^[4]。在高等植物中, 参与蔗糖代谢相关的酶主要有可溶性酸性转化酶(soluble acid in-

收稿日期: 2009-02-16

修回日期: 2009-04-01

基金项目: 科技部“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD07A04, 2009BADA7B01); 公益性行业(农业)科研专项经费项目(nyhyzx07-011)

作者简介: 刘洋, 在读博士, 从事能源作物分子改良研究。E-mail: lyfull@163.com

通讯作者: 路明, 研究员, 从事生物质能源研究

李桂英, 研究员, 博士, 从事能源作物研究。E-mail: liguiying@caas.net.cn

vertase, SAI)、中性转化酶(neutral invertase, NI)、蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, SPS)和蔗糖合成酶(sucrose synthase, SS)^[5]。前人的研究表明,甜高粱茎秆蔗糖累积与SAI和SS的关系密切,蔗糖累积的起始和节间的伸长通常伴随着较低的SAI和SS酶活性,但不同品种酶活性对甜高粱茎秆的影响,结论并不完全一致^[6-7]。本文以含糖量差异较大的3个甜高粱品种为材料,研究了甜高粱成熟期茎秆糖分累积以及相关酶活性的变化规律,为进一步研究甜高粱糖分代谢机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试甜高粱品种考利、拉马达和MN-2747均为本课题组保存,2007年5月在中国农业科学院作物科学研究所昌平试验基地播种,3次重复,3行区,行长3m,行距0.6m,株距0.25m,小区面积5.4m²。开花后40d从中间行连续收获3株茎秆,收获时避免高温和阳光照射,将收获材料的穗和叶片除去,将节间按照从顶部到底部的顺序编号(1~N),根据编号取1、3、5、7、9、11节间,将其外皮去掉并用剪刀剪成10~15cm的小段,放入液氮中,取回后放入-80℃冰箱保存。用于糖分和酶活性的测定。

1.2 方法

1.2.1 糖分提取与测定 糖分提取参照陈俊伟等^[8]的方法,并加以改进。在液氮中研磨样品,取0.1~0.2g,加入2ml 80%乙醇混匀,80℃下浸提2h,12000r/min离心10min,取上清1ml浓缩干燥,残渣用1ml超纯水溶解,过滤后供色谱上机用。

蔗糖、葡萄糖和果糖含量均采用高效液相色谱法(HPLC)测定。采用日本岛津液相色谱仪,色谱柱为岛津CLC-NH2柱,工作条件:柱温40℃,流速1.0ml/min,检测器为RID-10A示差折光检测器,流动相为乙腈:水=70:30,每次进样体积为10μl,Class-vp数据处理系统。根据样品峰高和各种糖的标准曲线计算糖的含量。3次重复,每个重复保证为一个独立的样品。整株茎秆的果糖、葡萄糖和蔗糖含量以6个节间的平均值计算。总糖含量以果糖、葡萄糖和蔗糖含量之和计算。己糖含量以果糖和葡萄糖之和计算。

1.2.2 酶的提取与酶活性的测定 酶的提取以及NI、SAI、SPS和SS酶活性的测定参照Zhu等^[9]的方法。3次重复,每个重复保证为一个独立的样品。

1.1.3 数据分析 利用SAS8.0软件进行酶活性和糖分含量相关性分析。

2 结果与分析

2.1 糖分含量

在考利、拉马达和MN-2747的茎秆中,蔗糖都是主要的糖分,分别占总可溶性糖的95.4%、88.3%和84.2%,而已糖为4.6%、11.7%和15.8%。不同甜高粱品种蔗糖含量差异明显(图1),考利最高可达95.9mg/g,拉马达为64.2mg/g,而MN-2747只有35.9mg/g。葡萄糖和果糖含量都较低,分别只有2.30mg/g、2.32mg/g和4.14mg/g、4.34mg/g以及3.03mg/g、3.70mg/g。

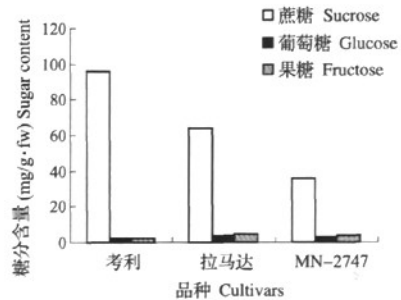


图1 甜高粱整株茎秆糖分含量

Fig.1 Sugar content in whole stalk of three sweet sorghum cultivars

3个品种不同节间葡萄糖和果糖差异较大,且中部节间普遍较低。以拉马达为例,第1节间果糖含量最高可达5.8mg/g,而第5节间只有2.5mg/g;第11节间葡萄糖含量为6.2mg/g,而第5节间只有2.1mg/g。随着节间的变化,3个品种的果糖和葡萄糖含量均呈现“U”型变化趋势(图2-A、B)。

不同品种间,蔗糖含量差异明显,但在品种内蔗糖含量的变化不是很大,随着节间的提高,考利和MN-2747略有增高的趋势,而拉马达则是先增高后降低(图2-C)。总糖含量累积规律与蔗糖含量基本一致(图2-D)。不同节间葡萄糖和果糖含量存在明显的相关性(图3, $R=0.88, P<0.01$)。

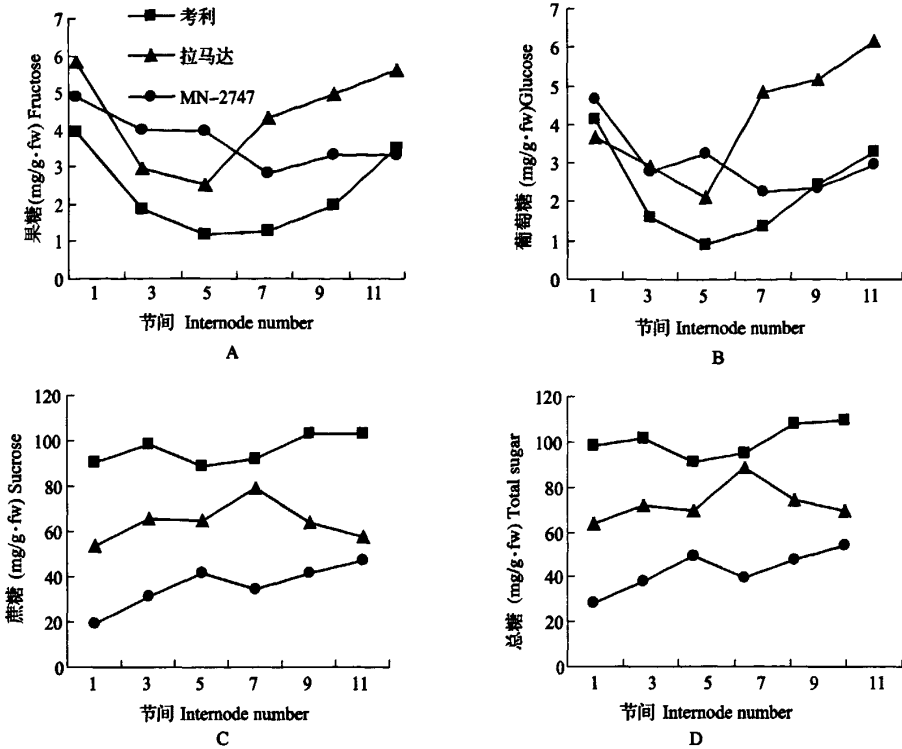


图2 甜高粱节间果糖、葡萄糖、蔗糖和总糖含量
 Fig. 2 The fructose (A), glucose (B), sucrose (C) and total sugar (D) content in individual internodes of three sweet sorghum cultivars

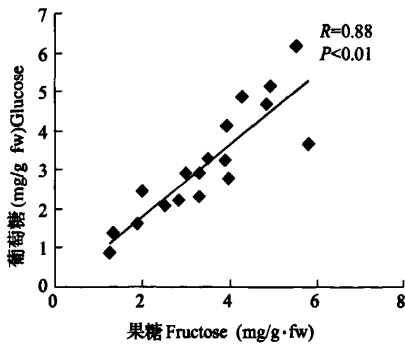


图3 甜高粱节间果糖和葡萄糖含量相关性
 Fig. 3 Relationship between fructose and glucose contents in individual internodes of three sweet sorghum cultivars

2.2 酶活性

3个品种成熟期茎秆不同节间NI、SAI、SPS和SS酶活性都较低。对于NI酶活性,考利和MN-2747随着节间的提高逐渐呈现先降低后增高又降低的趋势;而拉马达则呈现逐渐降低的趋势(图4-A)。SAI酶活性除MN-2747外都呈现下降的趋势(图4-B)。SPS酶活性不存在明显的变化规律(图

4-C)。SS酶活性在开始显著下降,而后又出现波动起伏(图4-D)。

2.3 糖分与酶活性相关性分析

3个品种不同节间的己糖含量与NI、SAI、SPS和SS酶活性均无显著的相关性(图5-A、B、C和D),只有SS酶活性略微有一点相关趋势。

3个品种不同节间的蔗糖含量与NI、SPS酶活性均无显著的相关性(图6-A、C和D),与SAI酶活性则呈现显著的相关性(图6-B, $R = -0.71, P < 0.01$),而与SS酶活性有一定的相关趋势,但没有达到显著水平($P < 0.0982$)。

3 讨论

虽然环境因素对茎秆含糖量有一定影响,但主要受遗传因素影响,茎秆含糖量遗传率为0.75^[10]或者更高0.877~0.927^[11]。本研究中3个甜高粱品种整株茎秆糖分含量差异明显,考利和MN-2747的蔗糖含量相差近3倍,可以认为基因型是决定糖分含量的主要因素。Gudrun等^[6]指出,播种后114d的Keller蔗糖最高可达650mg/g·dw,而已糖只有

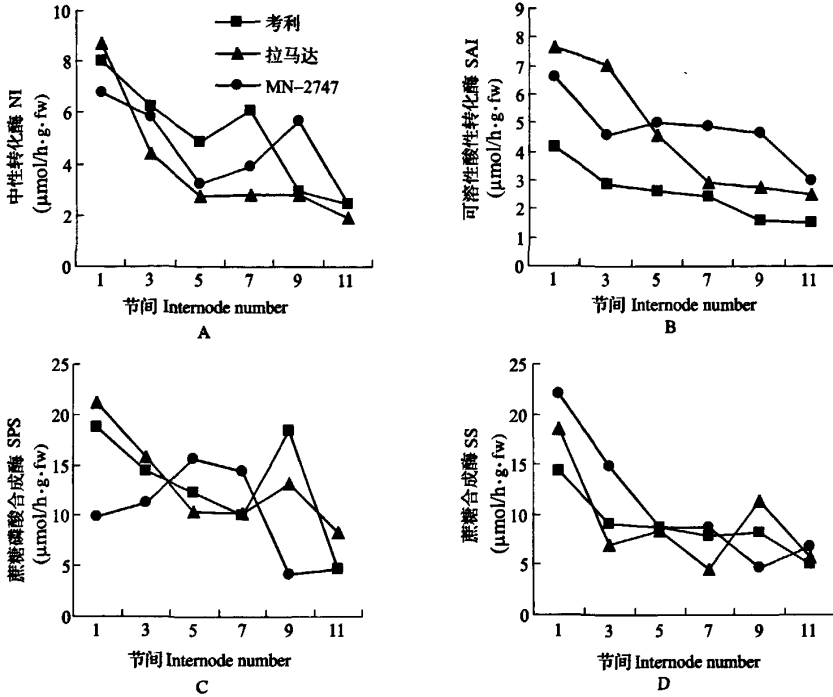


图 4 甜高粱节间的 NI,SAI,SPS 和 SS 酶活性

Fig. 4 Activities of NI (A),SAI(B),SPS(C) and SS(D) in individual internodes of three sweet sorghum cultivars

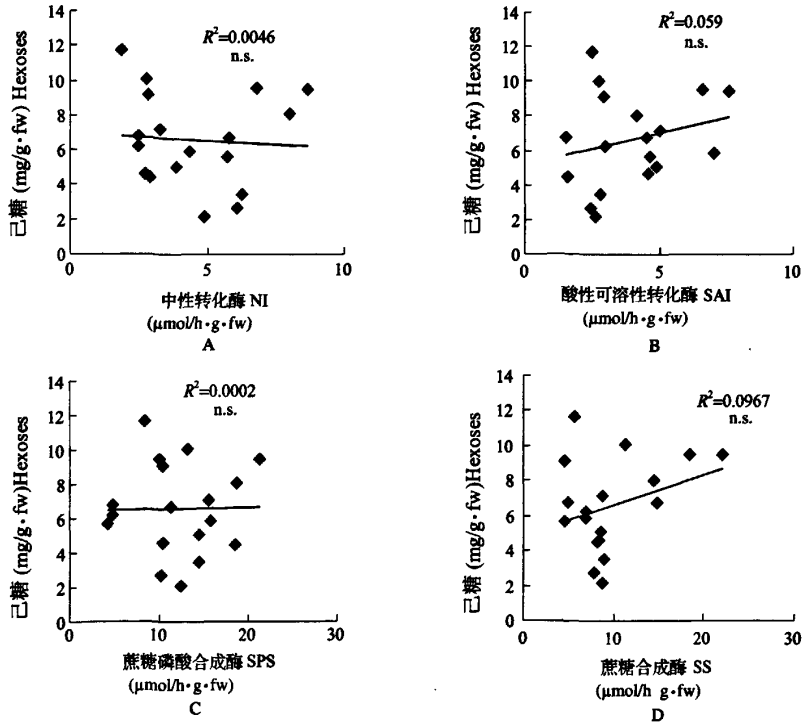


图 5 甜高粱节间酶活性与己糖含量的相关性

Fig. 5 Relationship between hexoses content and enzyme specific activities of NI(A),SAI(B),SPS(C) and SS(D) in individual internodes of three sweet sorghum cultivars

n. s. = Not significant. The same as below

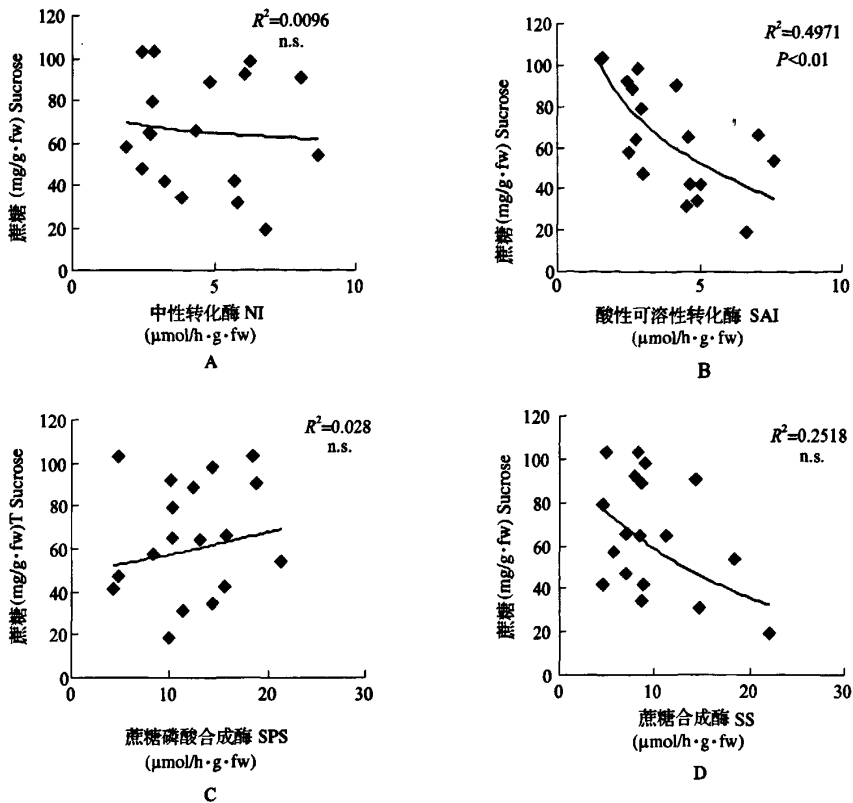


图6 甜高粱节间酶活性与蔗糖含量的相关性

Fig 6 Relationship between Sucrose content and enzyme specific activities of NI (A), SAI (B), SPS (C) and SS (D) in individual internodes of three sweet sorghum cultivars

30mg/g·dw。Rio 在成熟时期也有很高的蔗糖/己糖比率^[7]。在本研究中,成熟的甜高粱茎秆中糖分主要是蔗糖,考利蔗糖含量可达 95.9mg/g·fw,而已糖只有 4.6mg/g·fw。在多数植物中,己糖促使细胞的分裂和伸长,而蔗糖则引起细胞分化和成熟^[12-13]。因此在成熟的甜高粱茎秆中有较高的蔗糖/己糖比率。目前,在植物中已知只有两种酶可以催化蔗糖的分解,转化酶(蔗糖 + H₂O → 葡萄糖 + 果糖)和蔗糖合成酶(蔗糖 + UDP ↔ 果糖 + UDPG)^[14]。本研究表明,不同节间的葡萄糖和己糖存在明显的相关性($R = 0.88$),说明这两种糖极有可能是同时产生的,蔗糖很可能是它们的唯一来源。在成熟的高粱茎秆中,大多数蔗糖的运输是完整的,没有经过分解和再合成的步骤,这与甘蔗的蔗糖累积方式不同^[15]。如果存在蔗糖重新合成的步骤,在成熟期茎秆中应该能检测到相当数量的己糖,然而本研究和先前的研究都表明成熟期茎秆己糖含量很低,这与 Lee 等^[15]的结论是基本一致的。

在成熟甘蔗茎秆中,NI 酶活性非常低并且与蔗

糖含量没有明显的相关性^[9]。在甜高粱品种 Rio 中,NI 酶活性在茎秆伸长时期较高,但无论是整个茎秆还是不同节间,与蔗糖含量均无明显的相关性^[7]。在本研究中,NI 与蔗糖含量也无明显的相关性,这表明 NI 在蔗糖累积中可能不起关键的调控作用。

SAI 是一个非常重要的调控酶,在许多植物中 SAI 都直接调控蔗糖的累积^[9,16-17]。在甘蔗中,SAI 酶活性与蔗糖含量具有明显的相关性($R = -0.84, P < 0.002$)^[9],在甜高粱中,只有较低的 SAI 酶活性($< 33 \mu\text{mol/kg} \cdot \text{fw} \cdot \text{s}$)才能促使蔗糖的累积。然而前人的研究表明,SAI 酶活性与蔗糖含量相关性并不明显,在 Rio 品种中只有 -0.58 ^[7]。本研究得到的数据表明 SAI 与蔗糖含量相关系数达到 -0.71 ,其相关性高于 NI、SPS 和 SS。SAI 主要存在甜高粱茎秆韧皮部的液泡中,而蔗糖也存储在液泡中^[7],在成熟的高粱茎秆中,大多数的蔗糖是直接运输到茎秆中,没有经过分解和再合成的步骤^[15],这也说明蔗糖很可能是先进入液泡然后主要是在 SAI 的作用下分解成为

己糖。

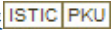
甘蔗茎秆中的蔗糖含量受到 SPS 的调控^[18]。Zhu 等^[9]的研究指出,虽然茎秆中 SPS 酶活性与蔗糖含量没有相关性,但是如果以 SPS-SAI 酶活性计算,与蔗糖含量的相关性高达 0.93(SAI 与蔗糖的相关性只有 $R = -0.72$),品种间蔗糖累积是由 SPS 合成和 SAI 分解共同作用的结果。然而,先前的研究和本研究都表明 SPS 在甜高粱茎秆的蔗糖累积过程中并不起关键作用^[6-7]。Lee 等^[15]指出,甘蔗蔗糖累积方式与甜高粱不同,没有经过分解和再合成的步骤。因此,茎秆中的大多数蔗糖很有可能是直接转运来的,而不是由 SPS 重新合成的。

前人的研究表明,甜高粱 SS 酶活性与糖分累积关系密切。在 Keller、Tracy 和 NK405 品种中,SS 酶活性与己糖相关系数可达 -0.9 以上;在 Rio 品种中,SS 酶活性与蔗糖含量相关系数达到 -0.691 ^[6-7]。然而本研究却发现 SS 酶活性与蔗糖含量没有明显的相关性。SS 可以催化一个可逆的反应,既可以分解蔗糖也可以降解蔗糖^[19]。因此,在甜高粱茎秆中,较高的酶活性既可以催化蔗糖降解成为 UDPG 和果糖,又可以促使蔗糖的合成^[20-21]。即使转化酶不起作用,我们也很难判断 SS 与蔗糖含量是否存在相关性。现有的结果来看,SAI 为甜高粱茎秆中重要的调控酶,但是还缺少直接的分子生物学证据,因此还需对甜高粱茎秆糖分代谢的分子机理做进一步的研究。

参考文献

- [1] Antonopoulou G, Gavaia H N, Skadas I V, et al. Biofuels generation from sweet sorghum: fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass [J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99: 110-119
- [2] Li G Y, Gu W B, Champan k. Sweet sorghum [M]. Beijing: Chinese agricultural Sci & Tech Press, 2004: 43-116
- [3] McBee C G, Miller F R. Carbohydrates in sorghum culms as influenced by cultivars, spacing, and maturity over a diurnal period [J]. *Crop Sci*, 1982, 22: 381-385
- [4] 赵香娜, 李桂英, 刘洋, 等. 国内外甜高粱种植资源主要性状遗传多样性及相关性分析 [J]. *植物遗传资源学报*, 2008, 9(3): 302-307
- [5] 张明方, 李志凌. 高等植物中与蔗糖代谢相关的酶 [J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(3): 289-295
- [6] Gudrun H T, Karin H, Peter N, et al. Sucrose accumulation in sweet sorghum stem internodes in relation to growth [J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, 97: 277-284
- [7] Sarah E L. Sucrose metabolism in the primary culm of sweet sorghum during development [J]. *Crop Sci*, 1987, 27: 1214-1219
- [8] 陈俊伟, 张上隆, 张良斌, 等. 柑桔果实遮光处理对光合产物分配、糖代谢与积累的影响 [J]. *植物生理学报*, 2001, 28(2): 112-118
- [9] Zhu Y J, Komor E, Moore P H. Sucrose accumulation in the sugarcane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase [J]. *Plant Physiol*, 1997, 115: 609-616
- [10] 马鸿图, 徐希德. 高粱茎秆含糖量遗传研究 [J]. *辽宁农业科学*, 1989(4): 15-20
- [11] 李胜国, 马鸿图. 高粱茎秆含糖量遗传研究 [J]. *作物杂志*, 1993(1): 18-21
- [12] Wobus U, Weber H. Sugars as signal molecules in plant seed development [J]. *Biol Chem*, 1999, 390: 937-944
- [13] Weschke W, Panitz R, Gubatz S, et al. The role of invertases and hexose transporters in controlling sugar ratios in maternal and filial tissues of barley caryopses during early development [J]. *Plant J*, 2003, 33: 395-411
- [14] Karen K. Sucrose metabolism; regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7: 235-246
- [15] Lee T, Donald M V. Compartmentation of sucrose during radial transfer in mature sorghum culm [J]. *BMC Plant Biology*, 2007, 7: 33
- [16] Rita Z, Konrad S, Uwe S. Soluble acid invertase determines the hexose-to-sucrose ratio in cold-stored potato tubers [J]. *Planta*, 1996, 198: 246-252
- [17] Daphne M, Schaffer A A. Sucrose phosphate synthase, sucrose synthase, and invertase activities in developing fruit of *Lycopersicon esculentum* Mill. and the sucrose accumulation *Lycopersicon hirsutum* Humb. and Bonpl [J]. *Plant Physiol*, 1991, 95: 623-627
- [18] Sarah E L. Sugar metabolism during growth and development in sugarcane internodes [J]. *Crop Sci*, 1999, 39: 480-486
- [19] Elling L. Effect of metal ions on sucrose synthase from rice grains—a study on enzyme inhibition and enzyme topography [J]. *Glycobiology*, 1995, 5(2): 201-206
- [20] 曹文伯. 甜高粱茎秆贮存性状变化的思考 [J]. *中国种业*, 2005(4): 43
- [21] 曹文伯, 庞铁军. 甜高粱品种主要性状广义遗传力的初步研究 [J]. *中国种业*, 2009(4): 37-38

甜高粱茎秆不同节间糖分累积与相关酶活性的变化

作者: [刘洋](#), [赵香娜](#), [岳美琪](#), [顿宝庆](#), [张保明](#), [路明](#), [李桂英](#), [LIU Yang](#), [ZHAO Xiang-na](#), [YUE Mei-qi](#), [DUN Bao-qing](#), [ZHANG Bao-ming](#), [Lu Ming](#), [Li Gui-ying](#)
作者单位: [中国农业科学院作物科学研究所/生物质能源研究中心/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程](#), 北京, 100081
刊名: [植物遗传资源学报](#) 
英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)
年, 卷(期): 2010, 11(2)
被引用次数: 1次

参考文献(21条)

1. Rita Z;Konrad S;Uwe S [Souble acid invertase determines the hexose-to-sucrose ratio in cold-stored potato tubers](#) 1996
2. Lee T;Donald M V [Compartmentation of SUCrose during radialtransfer in mature sorghum culm](#) 2007
3. Daphne M;Schaffer A A [Sucrose phosphate synthase, sucrose synthase, and invertase activities in developing fruit of Lyeopersicon esculentum Mill. and the sucrose accumulation Lycopersicon hirsutum Humb. and Bonpl](#) 1991
4. Zhu Y J;Komor E;Moore P H [Sucrose accumulation in the sugarcane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and SUCrose phosphate synthase](#)[外文期刊] 1997(2)
5. 陈俊伟;张上隆;张良诚 [柑桔果实遮光处理对光合产物分配、糖代谢与积累的影响](#) 2001(02)
6. Sarah E L [Sucrose metabolism in the primary culm of sweet sorghum during development](#)[外文期刊] 1987
7. Gudrun H T;Karin H;Peter N [Sucrose accumulation in sweet sorghum stem internodes in relation to growth](#)[外文期刊] 1996(2)
8. 张明方;李志凌 [高等植物中与蔗糖代谢相关的酶](#)[期刊论文]-[植物生理学通讯](#) 2002(03)
9. 赵香娜;李桂英;刘洋 [国内外甜高粱种植资源主要性状遗传多样性及相关性分析](#)[期刊论文]-[植物遗传资源学报](#) 2008(03)
10. McBee G G;Miller F R [Carbohydrates in sorghum culms as influenced by cultivars, spacing, and maturity over a diurnal period](#) 1982
11. Li G Y;Gu W B;Champan k [Sweet sorghum](#) 2004
12. 曹文伯;庞铁军 [甜高粱品种主要性状广义遗传力的初步研究](#)[期刊论文]-[中国种业](#) 2009(04)
13. 曹文伯 [甜高粱茎秆贮存性状变化的思考](#)[期刊论文]-[中国种业](#) 2005(04)
14. Elling L [Effect of metal ions on sucrose synthase from rice grains—a study on enzyme inhibition and enzyme topography](#)[外文期刊] 1995(02)
15. Sarah E L [Sugar metabolism during growth and development in sugarcane intcrnodes](#)[外文期刊] 1999(2)
16. Karen K [Sucrose metabolism:regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development](#)[外文期刊] 2004(3)
17. Wesehke W;Panitz R;Gubatz S [The role of invertases and hexose transporters in controlling sugar ratios in maternal and filial tissues of barley caryopses during early development](#)[外文期刊] 2003(2)

18. [Wobus U;Weber H Sugars as signal molecules in plant seed development](#)[外文期刊] 1999(7/8)
19. [李胜国;马鸿图 高粱茎秆含糖量遗传研究](#)[期刊论文]-[作物杂志](#) 1993(01)
20. [马鸿图;徐希德 高粱茎秆含糖量遗传研究](#) 1989(04)
21. [Biofuels generation from sweet sorghum:fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass](#) 2008

引证文献(1条)

1. [刘晓辉. 杨明. 杨泉女 不同类型能源植物生物产量研究](#)[期刊论文]-[中国种业](#) 2011(1)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201002008.aspx