

徐洪超,商靖,吕鑫,等.不同高粱品种碳代谢相关酶、SPS 基因表达的比较分析[J].江苏农业科学,2023,51(7):59-65.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.07.008

不同高粱品种碳代谢相关酶、SPS 基因表达的比较分析

徐洪超¹,商靖¹,吕鑫¹,逢洪波¹,王兰兰¹,李雪梅¹,马莲菊¹,王艳秋²,李玥莹¹

(1. 沈阳师范大学生命科学学院,辽宁沈阳 110034; 2. 辽宁省农业科学院高粱研究所,辽宁沈阳 110161)

摘要:为探讨不同高粱品种碳代谢相关酶的活性和 SPS 基因相对表达量的差异,以辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号 4 个高粱品种为试验材料,分别测定苗期、拔节期、抽穗期、成熟期高粱叶片和抽穗期、成熟期高粱籽粒碳代谢相关酶(SS、SPS、SSS、ADPG-ppase、UDPG-ppase)的活性,并比较分析 4 个高粱品种叶片及籽粒 SPS 基因表达的差异,探究它们之间的关系,从生理和基因角度选育出具有优良品质的高粱品种。分析结果发现,抽穗期、成熟期辽粘 3 号高粱叶片的 SS、SPS、SSS、UDPG-ppase 活性最高,显著高于其他 3 个高粱品种;成熟期辽粘 3 号高粱籽粒的 SS、SPS、SSS、ADPG-ppase、UDPG-ppase 活性也显著高于其他品种;对 4 个高粱品种的 SPS 基因表达量进行分析发现,苗期、抽穗期、成熟期辽粘 3 号高粱叶片的 SPS 基因表达量均为最高,抽穗期、成熟期高粱籽粒 SPS 基因表达量表现为辽糯 12 号>辽粘 3 号>辽杂 53 号>辽杂 11 号。综上所述,辽粘 3 号高粱品种叶片和籽粒在各个时期的碳代谢相关酶活性比较高,并且苗期、抽穗期、成熟期辽粘 3 号高粱叶片 SPS 基因相对表达量也相对较高,辽粘 3 号高粱籽粒 SPS 基因相对表达量仅次于辽糯 12 号,所以辽粘 3 号高粱品种可作为高粱生产中的首选品种,对筛选高质量的高粱品种具有重要的指导意义。

关键词:高粱;碳代谢相关酶;SPS 基因表达;酶活性;品种筛选

中图分类号:S514.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)07-0059-07

高粱是当今世界上的主要粮食作物之一,是一种产量高、抗逆性强、适应性广的 C₄ 植物^[1]。根据用途不同高粱可以分为粒用高粱、糖用高粱(甜高粱)、帚用高粱、饲用高粱 4 种类型。高粱还可以作为酿酒、酿醋和制糖的原料^[2]。由于需求的增加,高粱的种植面积呈现上升的趋势,但很难达到像水稻、玉米种植规模的水平^[3]。因此,如何提高高粱的产量,是目前科研工作者所需要研究的问题。碳代谢是植物最基础的生理代谢过程^[4],碳代谢可以通过协调多种相关酶来影响植物的生长发育,对植物产量和品质的形成过程具有重要意义。

碳代谢过程涉及多种相关酶,包括蔗糖合成酶(SS)、蔗糖磷酸合成酶(SPS)、可溶性淀粉合成酶

(SSS)、腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADPG-ppase)、尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UDPG-ppase)等关键酶。SS 作为植物蔗糖代谢过程的关键酶,可以催化蔗糖的分解与合成。SS 不仅与植物产量、品质、淀粉含量相关,还在植物胁迫过程中发挥重要作用^[5]。目前已经在高粱^[6]、小麦^[7]等多种植物体中克隆到了 SS 基因,并转化到其他植物中,蔗糖含量、光照等因素均可以影响 SS 基因的表达。前人研究发现,高粱叶片中 SS、SPS 活性与可溶性总糖含量呈极显著正相关关系,说明它们对高粱的糖积累过程具有重要意义^[8]。SPS 是调控蔗糖合成的关键酶之一,广泛存在于叶片、块茎、果实等组织中,除了在植物生长发育中发挥作用,在面对干旱、低温等胁迫时作出响应^[9],SPS 还可以调节碳分配。Hashida 等研究表明,对水稻 SPS 基因进行敲除,会降低叶片中 SPS 活性,从而影响淀粉和蔗糖的比例^[10]。SPS 基因最早在玉米中被分离出来^[11],甜菜^[12]、枸杞^[13]等物种中均相继克隆出 SPS 基因。光照、温度等外界因素都可以影响 SPS 基因的表达。SSS 通常存在于可溶性基质中,在玉米胚乳中已经分离出 4 种类型 SSS(zSSI、zSSIIa、zSSIIb 和 zSSIII),催化支链淀粉的合成^[14]。曲莹等研究发

收稿日期:2022-06-07

基金项目:国家重点研发计划(编号:2019YFD1001700);辽宁省教育厅重点攻关项目(编号:LZD201901、LZD202004);辽宁省教育厅面上项目(编号:LJKZ0991)。

作者简介:徐洪超(1998—),女,辽宁朝阳人,硕士研究生,研究方向为植物基因工程。E-mail:2670167503@qq.com。

通信作者:李玥莹,博士,教授,主要从事植物基因工程研究,E-mail:yueyinglicn@163.com;王艳秋,硕士,研究员,主要从事高粱育种与栽培工作,E-mail:wangyanqiu73@126.com。

现,SSS 活性与淀粉含量分配的关系因生长发育的进程不同而不同^[15]。温度、光照、CO₂ 浓度等因素都能影响 SSS 的活性。ADPG - ppase、UDPG - ppase 是淀粉合成过程中的关键酶^[16]。依兵研究发现,ADPG - ppase、UDPG - ppase 不仅可以催化直链淀粉的积累,还能调节支链淀粉的合成^[17]。

本研究以辽粘 3 号、辽糯 12 号、辽杂 11 号和辽杂 53 号 4 个高粱品种为试验材料,分别测定高粱的碳代谢相关酶活性,用荧光定量 PCR 技术分析 SPS 基因的表达情况,从生理和基因的角度为筛选优质高粱品种提供理论依据与指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料是由辽宁省农业科学院高粱研究所提供的辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号 4 个高粱品种。试验采取多因素随机区组设计,行长 6 m,行宽 0.55 m,4 行区,3 次重复,氮肥用量为 180 kg/hm²,磷、钾肥用量均为 75 kg/hm²。

1.2 试验方法

1.2.1 碳代谢相关酶活性测定 试验于 2021 年在辽宁省农业科学院进行。在苗期(6 月初)、拔节期(6 月末 7 月初)、抽穗期(7 月末)、成熟期(9 月中下旬)4 个高粱生长时期,分别随机选取辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号高粱植株的倒二叶和顶端的籽粒(抽穗期和成熟期),放入液氮速冻,迅速带回实验室于 -80 ℃ 冰箱保存,用来测定碳代谢关键酶活性以及 SPS 基因的相对表达量。

SS、SPS 活性的测定方法:按照张志良等的方法^[18]提取粗酶液,在反应体系中依次加入 0.1 mL Hepes - NaOH 缓冲液、0.04 mL MgCl₂、0.04 mL UDPG、0.04 mL 果糖溶液、0.1 mL 酶提取液进行 SS 活性的测定;SPS 活性测定可与 SS 活性测定同时进行,只需将 SS 反应体系中的果糖溶液换成 6 - 磷酸果糖溶液,其余试剂用量操作均与上述一致。

SSS、ADPG - ppase、UDPG - ppase 的活性采用江苏宝莱公司的 ELISA 试剂盒检测,具体方法参照说明书。

1.2.2 SPS 基因表达量测定

1.2.2.1 总 RNA 的抽提 本过程所用试剂及其操作步骤均由武汉赛维尔生物科技有限公司提供。

1.2.2.2 反转录 逆转录反应体系见表 1。

表 1 逆转录反应体系

成分	体积
5 × Reaction Buffer	4.0 μL
Oligo (dT) ₁₈ Primer (100 μmol/L)	0.5 μL
Random Hexamer primer (100 μmol/L)	0.5 μL
Servicebio® RT Enzyme Mix	1.0 μL
总 RNA (步骤 1 提取的 RNA)	10.0 μL
RNase free 水	添加至 20 μL

逆转录程序设置:第 1 阶段 25 ℃,5 min;第 2 阶段 42 ℃,30 min;第 3 阶段 85 ℃,5 s。

1.2.2.3 RT - qPCR 反应 PCR 反应体系:2 × qPCR Mix 7.5 μL,2.5 μmol/L 基因引物(上游 + 下游)1.5 μL,反转录产物(cDNA)2.0 μL,ddH₂O 4.0 μL。反应条件:第 1 阶段 95 ℃预变性 10 min;第 2 阶段 95 ℃变性 15 s,60 ℃退火/延伸 30 s,40 个循环。基因表达分析特异性引物见表 2。

表 2 基因表达分析特异性引物

引物名称	引物序列(5'→3')
18S 上游引物	GGAATGACTGGGCGTAAAGG
18S 下游引物	CGTAGACCAAGGGCGAACACT
SPS - 1 上游引物	GGCAAGAAATAGAAGAGCAG
SPS - 1 下游引物	ACCATACGAGGCATAAAACG

1.3 统计分析

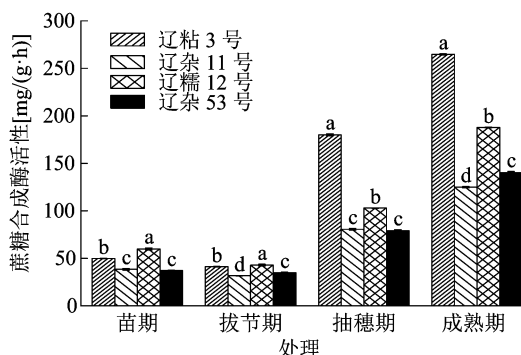
试验数据采用 SPSS 20.0 软件进行差异显著性分析,使用 Origin 2021 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 不同时期不同品种高粱 SS 活性比较分析

2.1.1 不同时期不同品种高粱叶片中 SS 活性比较分析 由图 1 可知,在苗期、拔节期、抽穗期、成熟期 4 个时期内,叶片中 SS 活性整体呈现先降后升的变化趋势,苗期和拔节期的 SS 活性变化不大,拔节期达到最低值,成熟期高粱叶片 SS 活性远远高于苗期和拔节期。辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号成熟期高粱叶片 SS 活性分别是苗期的 5.30 倍、3.25 倍、3.13 倍、3.78 倍。

苗期和拔节期辽糯 12 号高粱叶片 SS 活性最高,辽粘 3 号次之;抽穗期和成熟期辽粘 3 号高粱叶片 SS 活性均显著高于其他 3 个高粱品种($P < 0.05$),抽穗期辽粘 3 号 SS 活性分别是辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号的 2.23 倍、1.75 倍、2.28 倍;成熟期辽粘 3 号 SS 活性分别是辽杂 11 号、辽糯 12



图中误差线表示标准误差。不同小写字母表示不同高粱品种间酶活性差异达到显著水平($P < 0.05$)。下同

图1 不同时期不同品种高粱叶片中 SS 活性变化

号、辽杂 53 号的 2.12 倍、1.41 倍、1.89 倍。

2.1.2 不同时期不同品种高粱籽粒中 SS 活性比较分析 由图 2 可知,成熟期高粱籽粒 SS 活性要高于抽穗期,辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号成熟期高粱籽粒 SS 活性分别是抽穗期的 2.05 倍、1.66 倍、1.52 倍、4.64 倍。抽穗期高粱籽粒 SS 活性表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽杂 53 号,其中辽粘 3 号和辽糯 12 号差异不显著;成熟期高粱籽粒 SS 活性表现为辽粘 3 号 > 辽杂 53 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号,辽粘 3 号显著高于其他品种($P < 0.05$),分别比辽杂 53 号、辽糯 12 号、辽杂 11 号提高了 9.01%、36.83%、40.58%。

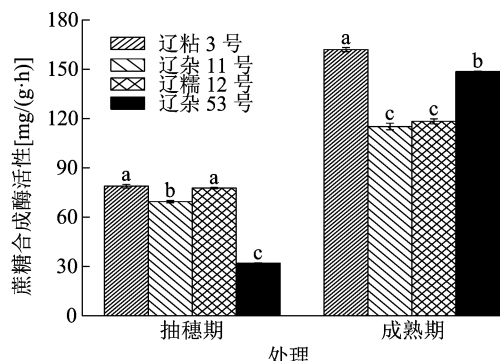


图2 不同时期不同品种高粱籽粒中 SS 活性变化

2.2 不同时期不同品种高粱 SPS 活性比较分析

2.2.1 不同时期不同品种高粱叶片中 SPS 活性比较分析 由图 3 可知,在苗期、拔节期、抽穗期、成熟期 4 个时期,高粱叶片 SPS 活性呈先降后升的变化趋势,拔节期活性最低,成熟期活性最高,这与 SS 活性的变化趋势基本一致。辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号成熟期高粱叶片 SPS 活性分别是苗期的 5.09 倍、3.32 倍、3.12 倍、2.87 倍。

苗期高粱叶片 SPS 活性表现为辽糯 12 号 > 辽粘 3 号 > 辽杂 53 号 > 辽杂 11 号;抽穗期高粱叶片 SPS 活性表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 53 号 > 辽杂 11 号,辽粘 3 号显著高于其他 3 个品种;成熟期辽粘 3 号高粱叶片 SPS 活性也显著高于其他 3 个品种($P < 0.05$),分别是辽糯 12 号、辽杂 53 号、辽杂 11 号的 1.37 倍、2.12 倍、2.03 倍。

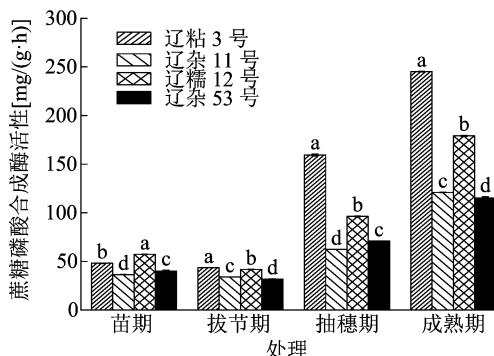


图3 不同时期不同品种高粱叶片中 SPS 活性变化

2.2.2 不同时期不同品种高粱籽粒中 SPS 活性比较分析 由图 4 可知,成熟期高粱籽粒 SPS 活性明显高于抽穗期,成熟期辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号高粱籽粒的 SPS 活性分别是抽穗期的 2.26 倍、1.41 倍、1.35 倍、2.66 倍。抽穗期辽糯 12 号高粱籽粒 SPS 活性最高,辽粘 3 号次之;成熟期高粱籽粒 SPS 活性表现为辽粘 3 号 > 辽杂 53 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号,辽粘 3 号高粱籽粒 SPS 活性分别比辽杂 53 号、辽糯 12 号、辽杂 11 号提高了 26.26%、57.22%、75.81%。

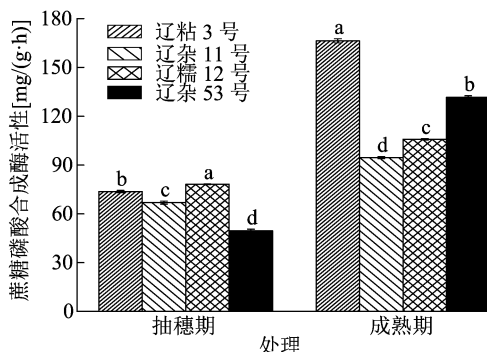


图4 不同时期不同品种高粱籽粒中 SPS 活性变化

2.3 不同时期不同品种高粱 SSS 活性比较分析

2.3.1 不同时期不同品种高粱叶片中 SSS 活性比较分析 由图 5 可知,在苗期、拔节期、抽穗期、成熟期 4 个时期内,辽粘 3 号和辽杂 11 号高粱叶片 SSS 活性呈先降后升的趋势;辽糯 12 号和辽杂 53 号呈先升再降再升的变化趋势,但 4 个品种的 SSS 活性

均在成熟期达到最高。成熟期辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号高粱叶片 SSS 活性分别是苗期的 1.80 倍、1.41 倍、1.64 倍、1.11 倍。

苗期,高粱叶片 SSS 活性表现为辽粘 3 号 > 辽杂 11 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 53 号,辽粘 3 号 SSS 活性显著高于其他 3 个品种;拔节期,高粱叶片 SSS 活性表现为辽糯 12 号 > 辽粘 3 号 > 辽杂 53 号 > 辽杂 11 号,辽糯 12 号和辽粘 3 号之间差异不显著;抽穗期和成熟期辽粘 3 号高粱叶片 SSS 活性均最高,辽糯 12 号次之,抽穗期辽粘 3 号高粱叶片 SSS 活性分别是辽糯 12 号、辽杂 53 号、辽杂 11 号的 1.67 倍、1.95 倍、2.14 倍;成熟期辽粘 3 号高粱叶片 SSS 活性分别是辽糯 12 号、辽杂 53 号、辽杂 11 号的 1.34 倍、2.24 倍、1.39 倍。

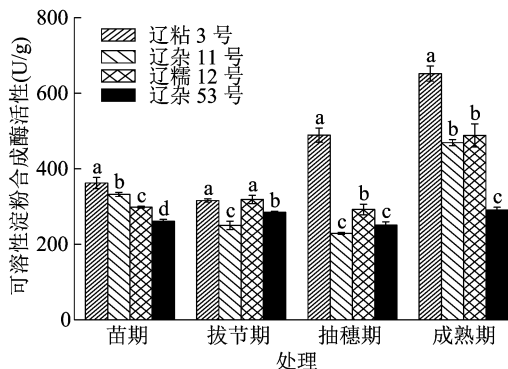


图5 不同时期不同品种高粱叶片中 SSS 活性变化

2.3.2 不同时期不同品种高粱籽粒中 SSS 活性比较分析 由图 6 可知,除辽杂 53 号外,其余 3 个高粱品种成熟期籽粒 SSS 活性均高于抽穗期,辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号成熟期高粱籽粒 SSS 活性分别是抽穗期的 1.44 倍、1.38 倍、1.48 倍、94%。抽穗期高粱籽粒 SSS 活性表现为辽杂 53 号 > 辽粘 3 号 > 辽杂 11 号 > 辽糯 12 号;成熟期辽粘 3 号高粱籽粒 SSS 活性显著高于其他 3 个高粱品种 ($P < 0.05$),分别比辽糯 12 号、辽杂 11 号、辽杂 53 号提高了 17.57%、23.59%、25.74%。

2.4 不同时期不同品种高粱 ADPG - ppase 活性比较分析

2.4.1 不同时期不同品种高粱叶片中 ADPG - ppase 活性比较分析 由图 7 可知,在苗期、拔节期、抽穗期、成熟期 4 个时期内,不同高粱品种的变化趋势不太一致,除辽杂 11 号外,其他高粱品种在抽穗期出现峰值,辽粘 3 号高粱叶片 ADPG - ppase 活性从苗期到抽穗期的变化比较大,抽穗期 ADPG - ppase 的活性是苗期的 1.47 倍。

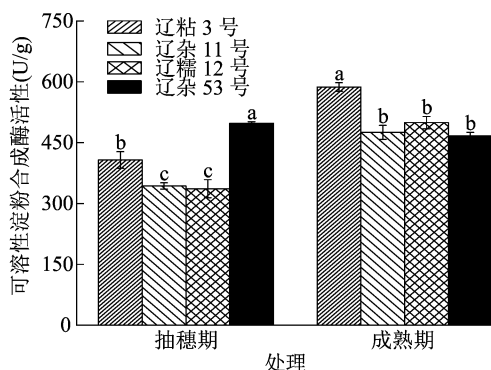


图6 不同时期不同品种高粱籽粒中 SSS 活性变化

苗期,高粱叶片 ADPG - ppase 活性表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽杂 53 号,辽粘 3 号显著高于其他 3 个品种 ($P < 0.05$);拔节期,高粱叶片 ADPG - ppase 活性表现为辽糯 12 号 > 辽粘 3 号 > 辽杂 53 号 > 辽杂 11 号;抽穗期,辽粘 3 号高粱叶片 ADPG - ppase 活性显著高于其他 3 个高粱品种,分别比辽糯 12 号、辽杂 53 号、辽杂 11 号提高了 41.32%、43.91%、67.69%;成熟期辽糯 12 号高粱籽粒 ADPG - ppase 活性最高,辽粘 3 号次之。

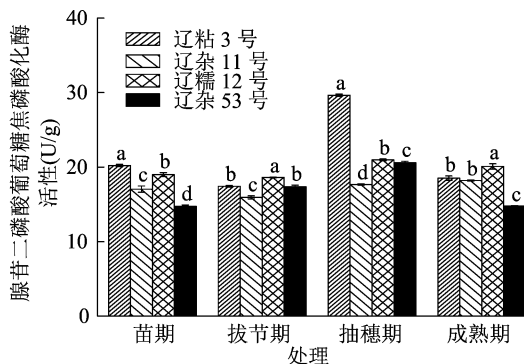


图7 不同时期不同品种高粱叶片中 ADPG-ppase 活性变化

2.4.2 不同时期不同品种高粱籽粒中 ADPG - ppase 活性比较分析 由图 8 可知,4 个高粱品种成熟期高粱籽粒 ADPG - ppase 活性均低于抽穗期,辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号成熟期高粱籽粒 ADPG - ppase 活性分别是抽穗期的 78%、98%、84%、93%。抽穗期、成熟期高粱品种籽粒 ADPG - ppase 活性均表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽杂 53 号,抽穗期,辽粘 3 号高粱籽粒 ADPG - ppase 活性显著高于其他 3 个品种,分别比辽糯 12 号、辽杂 11 号、辽杂 53 号提高了 10.62%、30.72%、62.72%。

2.5 不同时期不同品种高粱 UDPG - ppase 活性比较分析

2.5.1 不同时期不同品种高粱叶片中 UDPG -

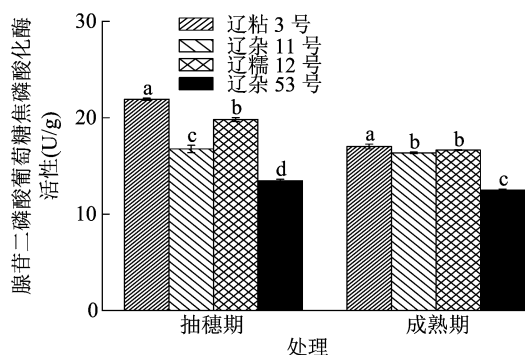


图8 不同时期不同品种高粱籽粒中 ADPG-ppase 活性变化

ppase 活性比较分析 由图 9 可知,在苗期、拔节期、抽穗期、成熟期 4 个时期内,辽粘 3 号和辽糯 12 号叶片 UDPG - ppase 活性呈升高趋势,辽杂 11 号和辽杂 53 号呈先升再降再升的变化趋势,UDPG - ppase 活性均在成熟期达到最高。辽粘 3 号成熟期高粱叶片 UDPG - ppase 活性是苗期的 1.44 倍。

苗期,高粱叶片 UDPG - ppase 活性表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 53 号 > 辽杂 11 号,辽粘 3 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号之间差异不显著;拔节期高粱叶片 UDPG - ppase 活性表现为辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽粘 3 号 > 辽杂 53 号;抽穗期和成熟期高粱叶片 UDPG - ppase 活性均表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽杂 53 号,4 个高粱品种之间差异显著,抽穗期辽粘 3 号高粱叶片 UDPG - ppase 活性分别比辽糯 12 号、辽杂 11 号、辽杂 53 号提高了 11.37%、27.10%、29.65%;成熟期辽粘 3 号高粱叶片 UDPG - ppase 活性分别比辽糯 12 号、辽杂 11 号、辽杂 53 号提高了 21.87%、26.83%、40.66%。

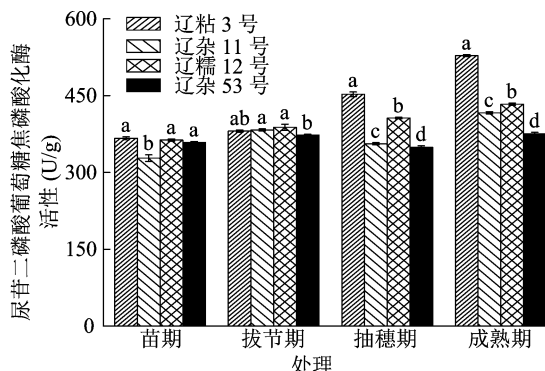


图9 不同时期不同品种高粱叶片中 UDPG-ppase 活性变化

2.5.2 不同时期不同品种高粱籽粒中 UDPG - ppase 活性比较分析 由图 10 可知,辽粘 3 号和辽糯 12 号成熟期高粱籽粒 UDPG - ppase 活性比抽穗期高,辽杂 11 号和辽杂 53 号成熟期高粱籽粒

UDPG - ppase 活性比抽穗期低。辽粘 3 号、辽杂 11 号、辽糯 12 号、辽杂 53 号成熟期高粱籽粒 UDPG - ppase 活性分别是抽穗期的 1.33 倍、87%、1.18 倍、97%。抽穗期,高粱籽粒 UDPG - ppase 活性表现为辽杂 11 号 > 辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 53 号,其中辽杂 11 号与辽粘 3 号差异不显著;成熟期,高粱籽粒 UDPG - ppase 活性表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽杂 53 号,辽粘 3 号高粱籽粒 UDPG - ppase 活性显著高于其他品种,分别比辽糯 12 号、辽杂 11 号、辽杂 53 号提高了 19.85%、51.21%、62.14%。

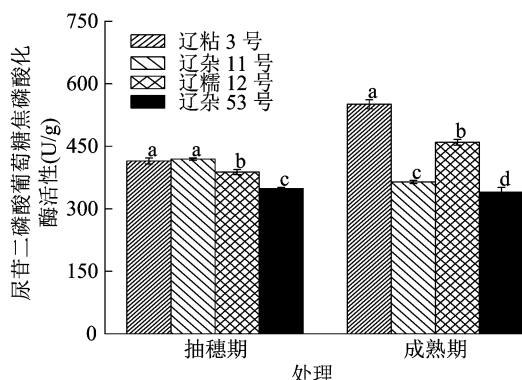


图10 不同时期不同品种高粱籽粒中 UDPG-ppase 活性变化

2.6 不同时期不同品种高粱 SPS 基因表达比较分析

2.6.1 不同时期不同品种高粱叶片中 SPS 基因表达比较分析

对 4 个高粱品种叶片的 SPS 基因表达量进行测定,选取辽粘 3 号高粱品种作为对照,发现苗期 4 个高粱品种叶片 SPS 基因表达量表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 53 号 > 辽杂 11 号,辽粘 3 号高粱叶片 SPS 基因表达量显著高于其他品种,分别是辽糯 12 号、辽杂 53 号、辽杂 11 号的 2.11 倍、4.90 倍、7.41 倍;拔节期,辽糯 12 号高粱叶片 SPS 基因表达量最高,辽粘 3 号次之;抽穗期辽粘 3 号、辽糯 12 号高粱叶片 SPS 基因表达量要显著高于辽杂 53 号、辽杂 11 号;成熟期,4 个高粱品种叶片 SPS 基因表达量表现为辽粘 3 号 > 辽杂 11 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 53 号,4 个高粱品种之间差异均不显著 (图 11)。

2.6.2 不同时期不同品种高粱籽粒中 SPS 基因表达比较分析

对 4 个高粱品种籽粒 SPS 基因表达量进行测定,选取辽粘 3 号高粱品种作为对照,发现抽穗期和成熟期 4 个高粱品种籽粒 SPS 基因表达量均表现为辽糯 12 号 > 辽粘 3 号 > 辽杂 53 号 > 辽杂 11 号,抽穗期 4 个品种之间差异比较显著,辽糯 12 号

高粱籽粒 *SPS* 基因表达量分别是辽粘 3 号、辽杂 53 号、辽杂 11 号的 1.83 倍、2.22 倍、2.78 倍(图 12)。

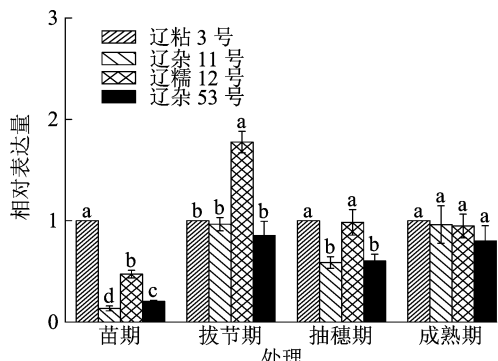


图 11 不同时期不同品种高粱叶片中 *SPS* 基因的表达量

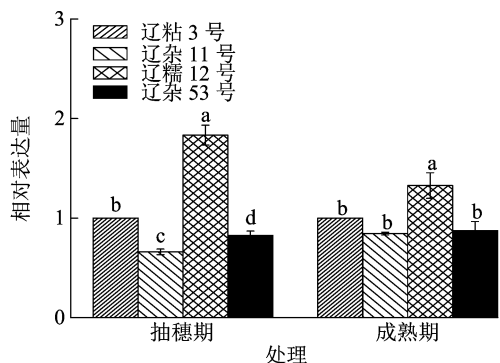


图 12 不同时期不同品种高粱籽粒中 *SPS* 基因的表达量

3 讨论与结论

3.1 不同高粱品种碳代谢关键酶活性的比较

蔗糖代谢和淀粉代谢是 2 种重要的糖代谢途径,代谢途径不同,所需要的关键酶也会有所差异。与蔗糖代谢相关的酶主要包括 SS、SPS 等^[19];与淀粉代谢相关的酶主要包括 SSS、ADPG - ppase、UDPG - ppase 等。其中 UDPG - ppase 可以催化三磷酸尿苷(UTP)和葡萄糖-1-磷酸生成尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG),UDPG 和 6-磷酸果糖在 SPS 催化下生成二磷酸尿苷(UDP)和 6-磷酸蔗糖,6-磷酸蔗糖可以在磷酸酯酶脱磷酸作用下生成蔗糖^[20];UDPG 和果糖在 SS 催化作用下也可以生成蔗糖和 UDP。葡萄糖-1-磷酸和三磷酸腺苷(ATP)在 ADPG - ppase 作用下可以生成淀粉合成的前体物质 ADPG,ADPG 经过 SSS 催化作用可以合成直链淀粉^[21]。以上多种碳代谢相关酶相互合作协调,共同调节蔗糖代谢和淀粉代谢过程。牛俊奇等对甘蔗研究发现,SS、SPS 活性的提高有利于蔗糖的积累^[22]。王芳等研究发现,ADPG - ppase、UDPG - ppase 的活性与小麦籽粒中淀粉的积累速率呈正相

关关系^[23]。

本研究发现,整个时期 4 个品种高粱叶片 SS、SPS 活性均呈先降后升的变化趋势,拔节期活性最低,成熟期最高,这与李春阳等的研究结果^[8]一致;4 个高粱品种叶片的 SSS、ADPG - ppase、UDPG - ppase 活性随生长时期的推进变化趋势不大相同,但是 SSS、UDPG - ppase 活性均在成熟期最高,除辽杂 11 号外,其他高粱品种 ADPG - ppase 活性均在抽穗期达到峰值。抽穗期到成熟期是高粱籽粒逐渐生成并积累有机物的过程,叶片经过光合作用等过程将产生的糖类等物质源源不断地运往籽粒,以供籽粒生长发育,所以抽穗期和成熟期对碳代谢产物需求更大,相关酶活性更高。

对同一时期不同高粱品种碳代谢相关酶活性比较发现,抽穗期和成熟期辽粘 3 号高粱叶片和籽粒的 SS 活性均高于其他 3 个高粱品种,苗期和拔节期辽糯 12 号高粱叶片 SS 活性最高,辽粘 3 号次之;拔节期、抽穗期、成熟期辽粘 3 号高粱叶片和成熟期籽粒的 SPS 活性显著高于其他品种;辽粘 3 号高粱叶片在苗期、抽穗期、成熟期的 SSS 活性均显著高于其他 3 种高粱品种,成熟期籽粒 SSS 活性也是最高;苗期和抽穗期辽粘 3 号高粱叶片 ADPG - ppase 活性显著高于辽杂 11 号、辽杂 53 号、辽糯 12 号,抽穗期、成熟期高粱籽粒的 ADPG - ppase 活性均表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽杂 53 号;抽穗期高粱叶片、成熟期高粱叶片和籽粒的 UDPG - ppase 活性均表现为辽粘 3 号 > 辽糯 12 号 > 辽杂 11 号 > 辽杂 53 号。整体上来说,辽粘 3 号高粱品种叶片和籽粒在各个时期的碳代谢相关酶活性都处于较高水平,有利于蔗糖、淀粉等物质的积累,从而提高高粱的产量和品质。

3.2 不同高粱品种 *SPS* 基因表达的比较

SPS 基因是作物蔗糖合成中重要的调节基因^[24-25]。刘洋等采用同源克隆的方法,首次克隆了 SPS3-1,可为高粱糖代谢分子机制的研究奠定基础^[26]。*SPS* 基因在组织器官表达、蔗糖代谢、转录调控等过程中具有重要意义^[24]。杨明等检测了高粱中 SPS 蛋白的表达,认为蔗糖积累与 SPS 的表达密切相关^[27]。吕佳红等研究发现,翠冠果实中 3 个 *SPS* 基因变化趋势与蔗糖积累一致,表明 *SPS* 基因与蔗糖积累关系非常密切^[28]。

本试验研究发现,苗期、抽穗期、成熟期辽粘 3 号高粱叶片 *SPS* 基因相对表达量最高,辽粘 3 号拔

节期叶片和抽穗期、成熟期籽粒 *SPS* 基因相对表达量仅次于辽糯 12 号。同时,辽粘 3 号在抽穗期、成熟期叶片的 *SPS* 活性均显著高于其他高粱品种,在抽穗期籽粒中的 *SPS* 活性仅低于辽糯 12 号,这与基因表达结果大体一致。

综上所述,辽粘 3 号高粱品种叶片和籽粒在各个时期的 *SS*、*SPS*、*SSS*、*ADPG-ppase*、*UDPG-ppase* 均具有较高的活性;苗期、抽穗期、成熟期辽粘 3 号高粱叶片 *SPS* 基因相对表达量均为最高,抽穗期、成熟期辽粘 3 号高粱籽粒 *SPS* 基因相对表达量仅略低于辽糯 12 号,并且辽粘 3 号 *SPS* 基因相对表达量与 *SPS* 活性测定结果大体一致。因此,辽粘 3 号高粱品种可作为高粱生产中的首选品种,为筛选高产高效的高粱品种提供了重要依据。

参考文献:

- [1]寇兴凯,徐同成,宗爱珍,等. 高粱的营养价值以及应用现状[J]. 安徽农业科学,2015,43(21):271-273.
- [2]张亚萍,王致和,张肖凌,等. 不同甜高粱品种光合特性与营养成分和产量的关系研究[J]. 中国糖料,2022,44(1):54-59.
- [3]徐克章,王英典,徐惠风,等. 高粱叶片光合作用特性的研究[J]. 吉林农业大学学报,1999,21(3):1-6.
- [4]王伟博. 不同水稻品种的碳代谢特性及相关性状的关联分析[D]. 杭州:浙江大学,2013.
- [5]秦翠鲜,桂意云,陈忠良,等. 植物蔗糖合成酶基因研究进展[J]. 分子植物育种,2018,16(12):3907-3914.
- [6]Sivasudha T, Kumar P A. Sequence analysis of cereal sucrose synthase genes and isolation of sorghum sucrose synthase gene fragment[J]. African Journal of Biotechnology, 2007, 6(20): 2386-2392.
- [7]郑翰. 波兰小麦蔗糖合成酶基因的克隆及表达分析[D]. 成都:四川农业大学,2014.
- [8]李春阳,胡瑞芳,张馨月,等. 不同甜高粱品种蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶活性与糖分积累的关系[J]. 江苏农业科学,2016,44(11):139-141.
- [9]曾德雯,朱龙英,冯岩,等. 高等植物蔗糖磷酸合成酶(*SPS*)的研究进展[J]. 植物生理学报,2020,56(5):931-938.
- [10]Hashida Y, Hirose T, Okamura M, et al. A reduction of sucrose phosphate synthase (*SPS*) activity affects sucrose/starch ratio in leaves but does not inhibit normal plant growth in rice[J]. Plant Science, 2016, 253: 40-49.

- [11]Worrell A C, Bruneau J M, Summerfelt K, et al. Expression of a maize sucrose phosphate synthase in tomato alters leaf carbohydrate partitioning[J]. Plant Cell, 1991, 3(10):1121-1130.
- [12]郝慧. 甜菜蔗糖磷酸合成酶(*SPS*)基因的克隆及其遗传转化[D]. 哈尔滨:黑龙江大学,2012.
- [13]王丽娟,丁向真,王彦才,等. 枸杞蔗糖磷酸合成酶基因的克隆及组织表达分析[J]. 西北植物学报,2013,33(8):1516-1520.
- [14]张军杰,黄玉碧. 玉米可溶性淀粉合成酶研究进展[J]. 玉米科学,2006,14(6):151-154.
- [15]曲莹,金正勋,刘海英,等. 粳稻杂种后代胚乳可溶性淀粉合成酶及同工型基因表达特性分析[J]. 中国水稻科学,2014,28(1):23-31.
- [16]柯福来,朱凯,李志华,等. 不同糯性高粱胚乳淀粉形成与积累过程的酶学调控机制及显微结构变化[J]. 中国农业科学,2020,53(14):2774-2785.
- [17]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.
- [18]张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3版. 北京:高等教育出版社,2003.
- [19]叶凯,再吐尼古丽·库尔班,陈维维,等. 不同播种期下甜高粱秸秆 *SS*、*SPS* 酶活性的研究[J]. 新疆农业科学,2012,49(10):1874-1880.
- [20]龚娣,高伦江,曾小峰,等. 青脆李采后糖积累及代谢相关酶活性变化[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2021,46(12):37-46.
- [21]彭估松,郑志仁,刘涤,等. 淀粉的生物合成及其关键酶[J]. 植物生理学通讯,1997,33(4):297-303.
- [22]牛俊奇,黄静丽,赵文慧,等. 甘蔗工艺成熟期 *SS* 和 *SPS* 酶活性与糖分积累的相关性研究[J]. 生物技术通报,2015,31(9):105-110.
- [23]王芳,王宪泽. 小麦籽粒淀粉合成动态及其相关酶活性的研究[J]. 麦类作物学报,2004,24(2):57-60.
- [24]吴建阳,陈妹,姚艳丽,等. 植物蔗糖磷酸合成酶(*SPS*)基因研究进展[J]. 分子植物育种,2022,20(8):2597-2606.
- [25]山溪,秦文斌,张振超,等. 甘蓝蔗糖磷酸合成酶家族的鉴定和表达分析[J]. 江苏农业科学,2021,49(16):53-60.
- [26]刘洋,顿宝庆,张保明,等. 甜高粱蔗糖磷酸合成酶基因(*SPS3-1*)的克隆与序列分析[J]. 分子植物育种,2011,9(3):357-363.
- [27]杨明,刘丽娟,李莉云,等. 甜高粱蔗糖积累与茎秆中 *SPS* 表达的相关性研究[J]. 中国农业科学,2009,42(1):85-92.
- [28]吕佳红,王英珍,程瑞,等. 梨蔗糖合成相关酶 *SUS* 和 *SPS* 基因家族的鉴定与表达分析[J]. 园艺学报,2018,45(3):421-435.