

萝卜肉质根膨大过程中糖含量及蔗糖代谢相关酶活性分析

王 玮¹, 龚义勤¹, 柳李旺^{1,2*}, 王 燕¹, 荆赞革¹, 黄丹琼¹, 汪隆植¹

(¹南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 园艺学院, 南京 210095; ²北达科达州立大学植物科学系, 法戈 58105, 美国)

摘 要: 用根冠比差异显著的萝卜品系为材料, 研究了肉质根膨大过程中的若干生理生化变化。结果表明: 4 个品系肉质根的库活性变化情况基本一致, “破肚”后一周内达到最大; 可溶性总糖、果糖和蔗糖含量初期下降, “破肚”期降至最低值, 其中低根冠比品系“NAU-LR-04”蔗糖含量一直高于其它高根冠比品系, 而其果糖含量则相对较低。肉质根中蔗糖合酶的活性变化与肉质根库活性的变化趋势基本一致, 且低根冠比品系蔗糖合酶活性相对高于高根冠比品系, 推测蔗糖合酶可能是调节肉质根蔗糖水平、控制肉质根库活性的关键酶。

关键词: 萝卜; 肉质根; 糖含量; 蔗糖合酶

中图分类号: S 631.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2007) 05-1313-04

Changes of Sugar Content and Sucrose Metabolizing Enzyme Activities During Fleshly Taproot Development in Radish (*Raphanus sativus* L.)

WANG Wei¹, GONG Yi-qin¹, LIU Li-wang^{1,2*}, WANG Yan¹, JING Zan-ge¹, HUANG Dan-qiong¹, and WANG Long-zhi¹

(¹National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ²Department of Plant Sciences, North Dakota State University, Fargo ND58105, USA)

Abstract: Several physiological changes during the development of radish fleshy taproot were studied using the advanced inbred lines of different ratio of root to shoot (R/S). The results showed that sink activity patterns of taproot were much similar among the four lines. The contents of carbohydrates including soluble total sugar, sucrose and fructose decreased at the beginning of taproot enlarging, and to the minimum at the stage of the primary cortex split. The sucrose content of the low R/S line NAU-LR-04 was higher than those of three high R/S lines at all stages, while the fructose content was lower in NAU-LR-04. Changes of activities of sucrose synthase (SuSy) were similar to sink activities in all lines, and the activity of SuSy in low R/S line was higher than those of high R/S lines. It can be inferred that the SuSy may play an important role in the sucrose level regulation and sink activity control during radish fleshy taproot thickening.

Key words: Radish; Fleshly taproot; Sugar content; Sucrose synthase

萝卜肉质根的膨大与其产量和品质密切相关。肉质根作为萝卜“源—库”关系中的一个重要的库, 其库强主要取决于“源—库”间的蔗糖浓度梯度。研究表明, 蔗糖的水平与变化受到蔗糖相关代谢酶活性的调节, 尤其是蔗糖合酶与转化酶, 对蔗糖水平与同化产物的分配调控已成为植物器官形成与发育研究领域的重要课题 (Sturm & Tang, 1999)。作者以根冠比差异明显的萝卜高代自交系为

收稿日期: 2007-05-11; 修回日期: 2007-06-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30571193); 江苏省自然科学基金项目 (创新人才 BK2004418); 江苏省高技术研究计划项目 (BG2005314)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: nauliulw@njau.edu.cn; liwang.liu@ndsu.edu)

材料,对肉质根不同发育阶段的碳水化合物(可溶性总糖、蔗糖、果糖等)含量、蔗糖合酶、中性及酸性转化酶活性的变化进行分析,以阐明萝卜肉质根库活性与蔗糖及其相关代谢酶变化关系,为最终揭示萝卜肉质根形成膨大机理以及肉质根性状遗传改良提供一定的理论依据。

1 材料与方法

3 个高根冠比品系 ‘NAU-XXXS-03’、‘NAU-XR-05’、‘NAU-Tdsg-05’ 与低根冠比品系 ‘NAU-LR-04’ 均为南京农业大学蔬菜遗传育种实验室选育的高代自交系。2005 年秋季播种于南京农业大学江浦园艺场,常规管理。

于播种后第 13 天开始取样,每隔 7 d 取样 1 次。样品一部分(包括叶片和肉质根)烘干用于测定其根冠比值及肉质根库活性,其余均保存于 -40°C 冰箱内,用于测定糖含量及酶活性。每个样品 3 次重复。

库活性计算按照 Warren-Wilson (1967) 所提出的公式,库活性 = $(\ln w_2 - \ln w_1) / T$, 其中 w_1 、 w_2 分别为肉质根不同发育阶段始、末期的干质量(g), T 为不同阶段所持续天数(d), 即库活性为单位干质量单位时间内所增加的干物质质量(g)。可溶性总糖、果糖和蔗糖含量的测定采用蒽酮—硫酸法(薛应龙, 1985; 李合生, 2000), 分光光度计(Beckman DU 640)测定 620 nm 处吸光值。蔗糖合酶(EC2.4.1.13)通过测定蔗糖的生成量来表示其活性; 转化酶(EC3.2.1.26)包括中性转化酶和酸性转化酶,通过测定还原糖的生成量来表示其活性(王惠聪等, 2003)。

2 结果与分析

2.1 不同萝卜品系根冠比变化

4 个萝卜品系的根冠比(R/S)在 34 d 前变化都不大,且都小于 0.5。34 ~ 55 d 为肉质根生长盛期,高 R/S 品系表现为根冠比迅速增加,其中 41 d 时 ‘NAU-XXXS-03’ 和 ‘NAU-Tdsg-05’ 的 R/S 均超过 1.0,其后迅速增加,至 55 d 时分别达到 4.96 和 5.27, ‘NAU-XR-05’ 55 d 时的 R/S 接近 4.0。而低 R/S 品系 ‘NAU-LR-04’ 的 R/S 却始终小于 1, 55 d 时为 0.96 (图 1)。

2.2 肉质根膨大过程中库活性变化

从图 2 可以看出,4 个萝卜品系的库活性变化在各个时期都比较一致,生长初期库活性都在 0.05 左右,随后均迅速增加,“破肚”后一周内(27 d)达到最大,其中 ‘NAU-Tdsg-05’ 的库活性达到 $0.358 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。27 d 以后库活性又逐渐下降,48 d 达到最低,随后有所增强,但低 R/S 品系 ‘NAU-LR-04’ 27 d 时的库活性明显偏小,仅为 $0.24 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。肉质根库活性的变化趋势与卢钢等(2004)研究结果类似。

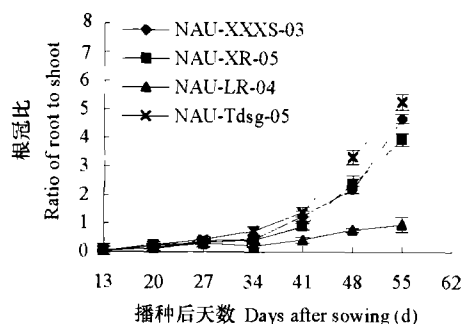


图 1 不同品系根冠比的变化动态

Fig. 1 Changes of ratio of root to shoot (R/S) in different radish line

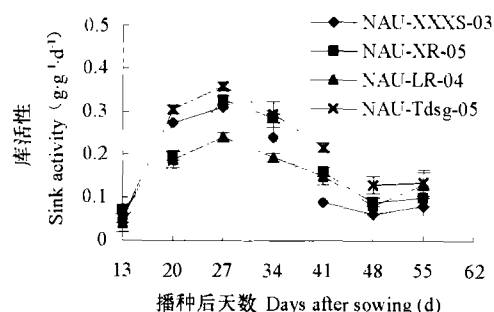


图 2 不同萝卜肉质根膨大过程中库活性变化

Fig. 2 Changes of sink activity during fleshy taproot formation and thickening in different R/S radish

2.3 肉质根膨大过程中的糖含量变化

不同 R/S 萝卜品系的“破肚”期基本相近, 均在 17~22 d, 4 个萝卜品系的可溶性总糖含量的变化趋势类似, “破肚”前期含量差别不大, 且都逐渐下降至最低水平, 随后又迅速上升, 达到峰值后开始缓慢下降。由于萝卜肉质根生长初期所需能量主要来源于种子, 而功能真叶同化产物难以满足需要, 故其碳水化合物含量逐渐下降; 而当能量来源转变为生长旺盛叶片的光合产物后, 随着肉质根的形成膨大, 其体内碳水化合物的含量也开始增加, 其中低 R/S 品系 ‘NAU-LR-04’ 可溶性总糖含量在 34 d 左右达到最高值 $28.60 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$, 随后下降, 其它 3 个高 R/S 品系可溶性总糖含量在 41 d 达到峰值后也逐渐下降 (图 3)。

4 个品系的果糖和蔗糖含量总的趋势是先下降再上升至最大值后继续下降。其中蔗糖含量除低 R/S 品系 ‘NAU-LR-04’ 外其它 3 个品系均一直下降至 27 d 左右才开始逐渐缓慢上升, 并一直保持在相对较低水平。低 R/S 品系 ‘NAU-LR-04’ 的蔗糖含量于 34 d 达到峰值 $5.48 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FM}$, 之后缓慢下降, 且整个膨大期一直高于其它 3 个高 R/S 品系肉质根的蔗糖含量, 而其果糖含量除 27 d 时稍高外, 其它时期均低于另外 3 个高 R/S 品系。

2.4 肉质根膨大过程中蔗糖代谢相关酶活性变化

如图 4 所示, 不同 R/S 品系蔗糖合酶的活性变化趋势基本一致, 且与肉质根库活性的变化样式类似, 肉质根发育前期蔗糖合酶的活性较低, 库活性也较弱, 此后均逐渐增强, 至“破肚”后期达到峰值后又逐渐下降, 到 55 d 时又有所上升。低 R/S 品系 ‘NAU-LR-04’ 的蔗糖合酶活性自 27 d 以后一直高于其它 3 个高 R/S 品系。中性转化酶和酸性转化酶的活性早期都很高。中性转化酶的活性随着肉质根的生长发育逐渐下降, 酸性转化酶的活性 4 个品系均先期下降, 20~27 d 活性有所增强, 以后急剧下降, 至 34 d 后一直保持较低水平。

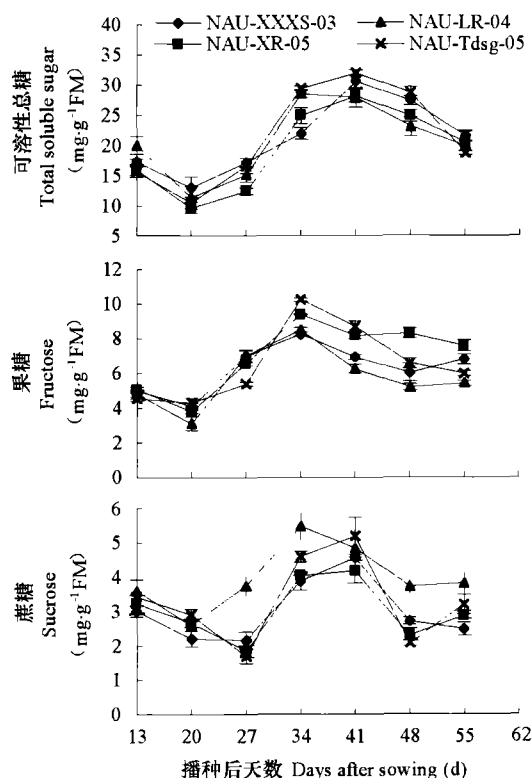


图 3 不同萝卜生育期肉质根糖含量变化
Fig. 3 Changes of sugar content during development of taproot in radish

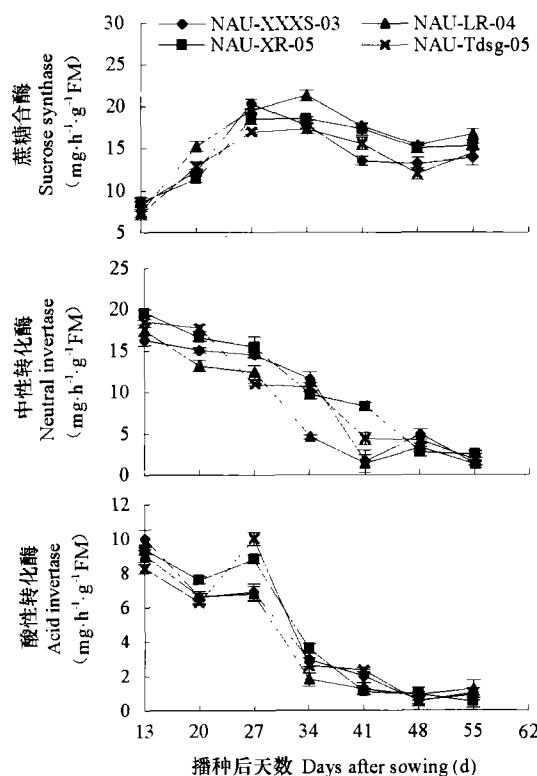


图 4 不同生育期萝卜肉质根蔗糖合酶与转化酶活性变化
Fig. 4 The activity changes of sucrose synthase and invertase during development of taproot in radish

3 讨论

萝卜肉质根作为重要的库器官,其库容量大小是决定库活性的重要指标。作为植物光合作用的主要产物,蔗糖在“源—库”间物质运输与库代谢中起着重要的作用 (Farrar et al., 2000)。低根冠比品系‘NAU-LR-04’肉质根蔗糖含量明显高于其它 3 个高根冠比品系,其肉质根中贮存有高浓度的蔗糖从而降低了“源—库”间的蔗糖浓度梯度,进而抑制了肉质根中蔗糖的卸载,使得地上部合成的光合同化产物更多地分配到生长旺盛的叶片及其它组织;而高根冠比的萝卜品系则由于维持着相对较高的蔗糖浓度梯度,使得光合同化产物更多地分配到肉质根,从而为其迅速膨大生长提供了重要的物质基础。

蔗糖的水平可以调节蔗糖合酶基因的表达 (Koch, 1996)。研究表明,蔗糖合酶的表达与结构变化是调控库发展以及在不同“源—库”间光合产物分配的重要因子 (Usuda et al., 1999a, 1999b),控制了库活性的强度 (Rouhier & Usuda, 2001)。本研究中,肉质根生长初期蔗糖合酶的活性较低,而转化酶 (包括 NI 和 AI) 的活性却较高,此时从地上部运来的蔗糖可能主要作为肉质根“库”器官合成的底物,被转化酶分解为果糖和葡萄糖用于“库”器官的迅速生长和细胞壁的生物合成。肉质根旺盛生长期转化酶的活性迅速下降,而果糖含量却没有随之呈下降趋势,这是因为调控蔗糖代谢的酶还有蔗糖磷酸合成酶,此外蔗糖合酶还有分解方向的活性,其共同作用使得果糖合成仍然占有一定的比例,同时也表明转化酶并不是调控蔗糖代谢的关键酶。肉质根中蔗糖合酶的活性变化与肉质根库活性的变化趋势基本一致,低 R/S 萝卜品系蔗糖含量明显高于高 R/S 品系,且其蔗糖合酶活性也相对较高,表明蔗糖合酶可能是调节蔗糖水平,进而控制肉质根库活性的关键酶,其对维持蔗糖浓度的平衡、同化产物的分配以及植物“源—库”关系的可控调节等方面起着重要的作用。

References

- Farrar J, Pollock C, Gallagher J. 2000. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. *Plant Sci.*, 154: 1–11.
- Koch K E. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plant. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47: 509–540.
- Li He-sheng. 2000. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment. Beijing: Higher Education Press; 194–197. (in Chinese)
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理与技术. 北京: 高等教育出版社; 194–197.
- Lu Gang, Zhuang Xiao-ying, Ye Wan-zhi. 2004. Changes of sink activity and soluble protein during tap-root thickening in *Raphanus sativus* L. *Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)*, 30 (1): 39–43. (in Chinese)
- 卢 钢, 庄晓英, 叶纨芝. 2004. 萝卜肉质根膨大过程库活性与蛋白质变化研究. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 30 (1): 39–43.
- Rouhier H, Usuda H. 2001. Spatial and temporal distribution of sucrose synthase in the radish hypocotyls in relation to thickening growth. *Plant Cell Physiol.*, 42 (6): 583–593.
- Sturm A, Tang G Q. 1999. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends in Plant Sci. (Reviews)*, 4: 401–407.
- Usuda H, Rouhier H, Demura T, Fukuda H. 1999a. Development of sink capacity of the “storage root” in a radish variety with a low ratio of “storage foot” to shoot. *Plant Cell Physiol.*, 40 (12): 1210–1218.
- Usuda H, Demura T, Shimogawara K, Fukuda H. 1999b. Development of sink capacity of the “storage root” in a radish cultivar with a high ratio of “storage root” to shoot. *Plant Cell Physiol.*, 40 (4): 369–377.
- Wang Hui-cong, Huang Hui-bai, Huang Xu-ming. 2003. Sugar accumulation and related enzyme activities in the litchi fruit of ‘Nuomici’ and ‘Feizixiao’. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (1): 1–5. (in Chinese)
- 王惠聪, 黄辉白, 黄旭明. 2003. 荔枝果实的糖积累与相关酶活性. *园艺学报*, 30 (1): 1–5.
- Warren-Wilson J. 1967. Ecological data on dry-matter production by plants and plant communities. In: Bradley E F, Denmead O T eds. The collection and processing of field data. Sydney: Interscience Publishers.
- Xue Ying-long. 1985. Experimental manual of plant physiology. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press; 134–138. (in Chinese)
- 薛应龙. 1985. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社; 134–138.