

王文静<sup>1</sup>, 王 鹏<sup>1</sup>, 王国杰<sup>2</sup>

(1. 郑州牧业工程高等专科学校 生物系, 河南 郑州 450011; 2. 郑州市农林科学研究所, 河南 郑州 450005)

**摘要:** 在池栽条件下, 研究了 3 个不同类型冬小麦品种藁麦 8901(强筋品种)、豫麦 49 号(中筋品种)和洛麦 1 号(弱筋品种)灌浆期籽粒中淀粉合成相关酶活性的差异。结果表明, 不同类型冬小麦籽粒中腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPP)、尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UGPP)、可溶性淀粉合成酶(SSS)、淀粉粒结合的淀粉合成酶(GBSS)、淀粉分支酶(SBE)活性变化均呈单峰曲线。豫麦 49 号在灌浆期上述几个酶活性变化的峰值均高于其他 2 个品种, 且大部分被研究的酶类在灌浆中后期仍维持较高活性。可见, 与藁麦 8901 和洛麦 1 号相比, 豫麦 49 号具有较强的淀粉合成能力。

**关键词:** 冬小麦; 品质类型; 淀粉; 酶活性

中图分类号: S512.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)02-0075-04

## Studies on the Activities of Enzymes Involved in Starch Synthesis During Grain Filling of Different Winter Wheat Cultivars with Different Types

WANG Wen-jing<sup>1</sup>, WANG Peng<sup>1</sup>, WANG Guo-jie<sup>2</sup>

(1. Department of Biology, Zhengzhou Animal Husbandry Engineering College, Zhengzhou 450011, China;

2. Zhengzhou Institute of Agricultural and Forestry Science, Zhengzhou 450005, China)

**Abstract:** In the condition of soil pool, three winter wheat cultivars with different gluten types, Gaomai 8901 (strong), Yumai 49 (medium) and Luomai 1 (weak) were used to investigate the difference of activities of enzymes involved in starch synthesis in the kernel during grain filling. The results indicated that the changes in activities of AGPP, UGPP, SSS, GBSS and SBE of different cultivars all showed a single-peak curve. The peak levels of all tested enzymes in Yumai 49 was higher than those in other two cultivars, and most of the enzymes still maintained higher activities during mid to later grain filling. It suggests that the medium gluten cultivar Yumai 49 had stronger ability in starch synthesis, compared with Gaomai 8901 and Luomai 1.

**Key words:** Winter wheat; Quality type; Starch; Enzyme activity

淀粉是高等植物重要的储存多糖, 是人类粮食和动物饲料的重要碳源和能源<sup>[1]</sup>。小麦胚乳中的淀粉是由源器官制造的光合同化物以蔗糖形式输入库器官(籽粒), 在籽粒中经过一系列酶的催化作用形成的<sup>[2]</sup>。参与淀粉合成的酶很多, 如腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPP)、淀粉粒结合的淀粉合成酶(Granule-bound starch synthase, GBSS)、可溶性淀粉合成酶(Soluble starch synthase, SSS)、淀粉分支酶(Starch branching enzyme, SBE)等。Schaffer 等<sup>[3]</sup>认为, AGPP、淀粉合成酶和 SBE 是控制淀粉合成的 3 个关键酶。王月福

等<sup>[4]</sup>、姜东等<sup>[5]</sup>指出, 蔗糖合成酶(Sucrose synthase, SS)、AGPP、SSS 和 GBSS 是影响淀粉合成的关键酶。高松洁等<sup>[6]</sup>研究了不同穗型冬小麦品种灌浆期籽粒中与淀粉合成有关的酶活性变化, 指出 AGPP、SSS 和 SBE 是影响不同穗型冬小麦品种籽粒淀粉积累的关键酶。但是, 已有研究所选品种的类型较为单一, 关于不同类型冬小麦品种籽粒灌浆过程中淀粉合成相关酶活性差异的研究至今未见报道。本试验在池栽条件下, 研究了 3 个不同类型(强筋、中筋、弱筋)冬小麦品种籽粒灌浆过程中淀粉合成相关酶活性的差异, 旨在探讨籽粒灌浆过程中淀粉积累的调

收稿日期: 2006-08-11

基金项目: 河南省科技攻关项目(0524100018)

作者简介: 王文静(1970-), 女, 河南新乡人, 副教授, 硕士, 主要从事生物学教学和科研工作。

控机理,为优质小麦生态区划栽培调控和品质育种提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

试验于2003–2004年在河南省农业高新技术园试验田水泥池中进行,水泥池的面积为 $1\text{ m}^2$ ,深 $1\text{ m}$ (不封底)。水泥池共12个,填入壤土。基础肥力为有机质 $9.81\text{ mg/g}$ ,全氮 $0.88\text{ g/kg}$ ,速效氮 $83.75$

$\text{mg/kg}$ ,速效磷 $13.92\text{ mg/kg}$ ,速效钾 $135.08\text{ mg/kg}$ 。基肥按每公顷施优质鸡粪 $25\,000\text{ kg}$ ,纯N $180\text{ kg}$ , $\text{P}_2\text{O}_5$  $150\text{ kg}$ , $\text{K}_2\text{O}$  $150\text{ kg}$ ,于整地前施入(其中氮肥底施50%,剩余的50%于拔节期施入)。氮、磷、钾肥分别为尿素、磷酸二铵和氯化钾。供试小麦品种为藁麦8901(强筋品种)、豫麦49号(中筋品种)、洛麦1号(弱筋品种),不同品质类型品种的性状差异见表1。10月22日播种,每平方米留苗200株,随机排列,4次重复,田间管理同一般高产田。

表1 不同品质类型小麦品种的性状差异

Tab. 1 The characteristic differences of wheat cultivars with different quality type

品种 Cultivar	每穗小穗数 Spikelets per spike	穗粒数 Kernels per spike	千粒重/g 1000-kernel weight	产量/(kg/hm <sup>2</sup> ) Yield per ha	蛋白质/% Protein content	湿面筋/% Wet gluten content	淀粉/% Starch content
藁麦8901 Gaomai 8901	19.4	35.2	37.0	7 275	15.70	36.10	52.71
豫麦49号 Yumai 49	21.1	37.4	42.5	8 400	14.32	27.86	57.80
洛麦1号 Luomai 1	23.8	40.0	41.0	7 950	10.72	23.70	54.45

### 1.2 取样方法

开花期挂牌标记同一日开花的麦穗,分别于开花后的6,12,18,24,30,36 d取样。每个穗取第4至第12小穗基部的2个籽粒,每个小区每次取50粒,经液氮速冻30 min后放入 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰柜中保存,用于酶活性测定。

### 1.3 AGPP, UGPP, GBSS, SSS 和 SBE 活性测定

1.3.1 粗酶液的制备 酶液提取参考程方民等的方法<sup>[7]</sup>,略做改动:取样品 $0.5\text{ g}$ 左右,称质量后倒入研钵,加 $5\text{ mL}$ 提取液(含 $100\text{ mmol/L}$  Tris-HCl, pH 7.5,  $8\text{ mmol/L}$   $\text{MgCl}_2$ ,  $2\text{ mmol/L}$  EDTA, 12.5% (V/V)甘油(Glycerol), 0.5% (m/V)聚乙烯吡咯烷酮(PVP-40),  $50\text{ mmol/L}$   $\beta$ -巯基乙醇(2-Mercaptoethanol)),研磨成匀浆,倒入 $1.5\text{ mL}$ 离心管内,以 $30\,000\times g$   $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心10 min,然后分别收集上清液和沉淀,其中上清液用于UGPP, AGPP, SSS和SBE活性测定,在沉淀部分加入 $5\text{ mL}$ 上述提取液,悬浮后用

于GBSS活性测定。

1.3.2 酶活性测定 AGPP, UGPP酶活性测定参照Douglas等的方法<sup>[2]</sup>; GBSS, SSS和SBE酶活性测定参照Nakamura等的方法<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 AGPP 和 UGPP 活性变化

AGPP在淀粉生物合成中催化葡萄糖-1-磷酸(G-1-P)与无机焦磷酸(PPi)作用,生成腺苷二磷酸葡萄糖(ADPG);而ADPG是淀粉合成的直接前体物质之一,ADPG的供应可能影响植物直链淀粉和支链淀粉的产量<sup>[9]</sup>。因此,AGPP是淀粉合成的关键酶之一。籽粒中AGPP活性3个品种均呈单峰曲线变化(图1-A),均在花后18 d达到最大值。以豫麦49号酶活性最高,其次是洛麦1号,藁麦8901酶活性最低。可见豫麦49号籽粒中AGPP活性高,淀粉合成的底物比其他2个品种充足。

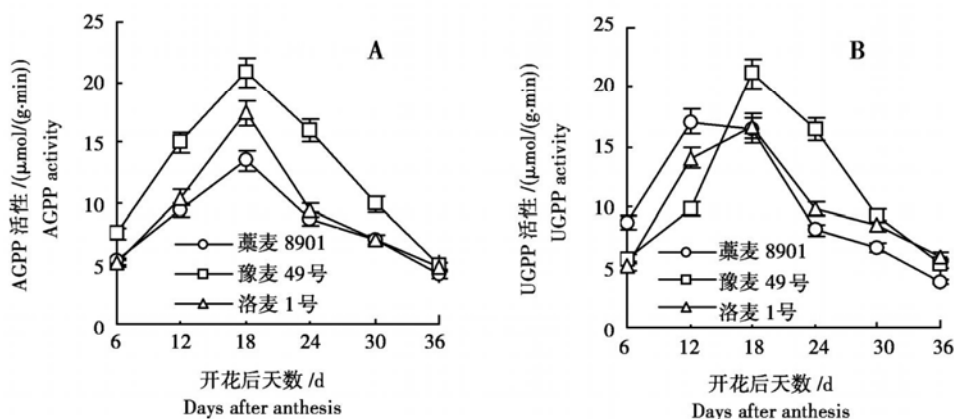


图1 不同类型冬小麦籽粒中AGPP(A)和UGPP(B)活性变化

Fig. 1 Changes of AGPP (A) and UGPP (B) activities in the kernel of wheat with different types

UGPP是淀粉合成中的另1个关键酶,它催化尿

苷二磷酸葡萄糖(UDPG)与无机焦磷酸反应生成G-

1-P, 进而在 AGPP 作用下生成淀粉合成的最直接前体 ADPG<sup>[9]</sup>。3 个品种籽粒中 UGPP 活性也呈单峰曲线变化(图 1-B), 藁麦 8901 最大值出现在花后 12 d, 而豫麦 49 号和洛麦 1 号则出现在花后 18 d。豫麦 49 号峰值最大, 藁麦 8901 次之, 洛麦 1 号稍低于藁麦 8901。灌浆初期, 藁麦 8901 和洛麦 1 号酶活性上升较快, 二者酶活性高于豫麦 49 号。而在花后 12~18 d, 豫麦 49 号籽粒中 UGPP 活性直线上升。花后 18~30 d 内, 豫麦 49 号酶活性显著高于其他两品种。

## 2.2 SSS 和 GBSS 活性变化

SSS 是催化淀粉合成的一个重要酶, 它游离存

在于淀粉体中, 催化 ADPG 与淀粉引物(葡聚糖)反应, 将 ADPG 分子上的葡萄糖残基转移到淀粉引物上, 使淀粉链延长<sup>[10]</sup>。小麦籽粒中 SSS 主要催化支链淀粉的合成, 籽粒中 SSS 活性越强, 籽粒利用 ADPG 合成支链淀粉的能力就越强。从图 2-A 可以看出, 3 个不同类型品种籽粒中 SSS 活性均呈单峰曲线变化, 最大值都出现在花后 18 d, 且以豫麦 49 号峰值最大, 洛麦 1 号稍低, 藁麦 8901 最低。在灌浆初期, 豫麦 49 号酶活性就增加较快, 其活性显著高于其他 2 个品种。灌浆中期, 豫麦 49 号和洛麦 1 号活性显著高于藁麦 8901。达到峰值以后, 豫麦 49 号和洛麦 1 号酶活性的下降趋势基本相同。

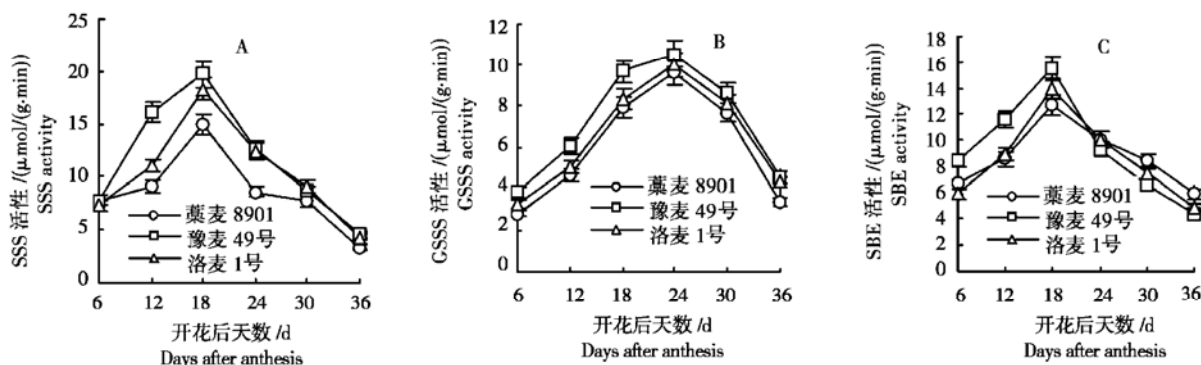


图 2 不同类型冬小麦籽粒中 SSS(A)、GBSS(B) 和 SBE(C) 活性变化

Fig. 2 Changes of SSS(A), GBSS(B) and SBE(C) activities in the kernel of wheat with different types

GBSS 与 SSS 的作用相同, 将 ADPG 上的葡萄糖残基转移到淀粉引物上, 使淀粉分子的链加长。但 GBSS 必须在淀粉粒内部才能起催化作用, 即必须在淀粉粒内部形成一定的晶体结构时才起作用<sup>[11]</sup>, 故被称为淀粉粒结合的淀粉合成酶或束缚态淀粉合成酶。GBSS 活性的高低直接影响淀粉的合成, GBSS 活性强, 淀粉的积累速率就高。直链淀粉的合成主要是由 GBSS 催化。由图 2-B 可知, 3 个品种籽粒中 GBSS 活性以花后 24 d 最高, 峰值的出现比 SSS 晚 6 d 左右。在整个灌浆期内, 3 个品种 GBSS 活性变化趋势基本相同, 以豫麦 49 号酶活性较高。

## 2.3 SBE 活性变化

由图 2-C 可知, 3 个品种酶活性均呈单峰曲线变化, 花后 18 d 达到峰值, 以豫麦 49 号峰值最大, 洛麦 1 号次之, 藁麦 8901 略低。花后 12~24 d, 籽粒中 SBE 活性大小为豫麦 49 号>洛麦 1 号>藁麦 8901, 但在花后 24 d 以后, 其活性大小为藁麦 8901>洛麦 1 号>豫麦 49 号。灌浆前期和中期 SBE 活性的变化趋势与籽粒中支链淀粉积累速率的变化趋势基本吻合。

## 3 讨论

在淀粉合成过程中, 需要很多酶的催化。每个

酶都有其催化的相应位点, 有其不同的作用, 需要不同的底物。这些酶及其同功酶的协同作用, 才使得淀粉的生物合成顺利进行。近年来的研究表明, 无论是高等植物的光合器官还是非光合器官, AGPP、淀粉合成酶和 SBE 等酶在淀粉合成过程中均起重要作用。本研究表明, 中筋品种豫麦 49 号灌浆期籽粒中 AGPP, UGPP, SSS, GBSS 和 SBE 活性均高于其他 2 个品种, 而且大部分被研究的酶类在灌浆中后期仍维持较高活性。可见, 与强筋和弱筋品种相比, 中筋品种淀粉合成的底物供应充足, 具有较强的淀粉合成能力。从而导致籽粒中淀粉积累快, 含量高。这可能是该品种粒重和产量较高的主要原因。

近几年, 许多有关淀粉方面的研究都定位于淀粉合成的几个关键酶的特性及其基因的克隆上<sup>[11-15]</sup>, 从而加深了对淀粉代谢的认识。在小麦籽粒淀粉合成过程中受一些酶的调节或催化, 关于这方面已有报道。对于上述酶的动力学特性、提高这些酶的可调控因素及 UGPP 在小麦淀粉合成中的作用等有待于进一步研究和验证。

## 参考文献:

- [1] Visser R G F, Stolt A, Jacobsen E. Towards modifying plants for altered starch content and composition[J]. Plant Science,

- 1994, 11: 63– 68.
- [2] Douglas C D, Tsung M K, Frederick C F. Enzymes of sucrose and hexose metabolism in developing kernels of two inbreds of maize[J]. *Plant Physiology*, 1988, 86: 1013– 1019.
- [3] Schaffer A A, Petreikov M. Sucrose to starch metabolism tomato fruit undergoing transient starch accumulation[J]. *Plant Physiology*, 1997, 113: 739– 746.
- [4] 王月福, 于振文, 李尚霞, 等. 小麦籽粒灌浆过程中有关淀粉合成酶的活性及其效应[J]. *作物学报*, 2003, 29(1): 75– 81.
- [5] 姜东, 于振文, 李永庚, 等. 高产小麦强势和弱势籽粒淀粉合成相关酶活性的变化[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(4): 378– 383.
- [6] 高松洁, 郭天财, 王文静, 等. 不同穗型冬小麦品种灌浆期籽粒中与淀粉合成有关的酶活性变化[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(11): 1373– 1377.
- [7] 程方民, 蒋德安, 吴平, 等. 早籼稻籽粒灌浆过程中淀粉合成酶的变化及温度效应特征[J]. *作物学报*, 2001, 27(2): 201– 206.
- [8] Nakamura Y, Yuki K, Park S Y. Carbohydrate metabolism in the developing endosperm of rice grains[J]. *Plant Cell Physiology*, 1989, 56: 833– 839.
- [9] Lloyd J R, Springer F, Buléon A *et al.* The influence of alterations in ADP-glucose pyrophosphorylase activities on starch structure and composition in potato tubers[J]. *Planta*, 1999, 209: 230– 238.
- [10] Denyer K. Identification of multiple isoforms of soluble and granule-bound starch synthase in developing wheat endosperm[J]. *Planta*, 1995, 196: 256– 265.
- [11] Preiss J, Sivak M. Starch synthesis in sinks and sources. In: Zamski E, Schaffer AA eds. *Photoassimilate Distribution in Plants and Crops*[M]. New York: Dekker, 1996: 63– 69.
- [12] 王文静, 王启亮, 李利红. 土壤质地对高产冬小麦蔗糖代谢及其关键酶活性的影响[J]. *河南农业科学*, 2004(5): 16– 18.
- [13] 高松洁, 郭天财, 罗毅. 不同面筋含量冬小麦品种籽粒灌浆期淀粉合成关键酶活性变化[J]. *华北农学报*, 2003, 18(4): 19– 21.
- [14] 韩巧霞, 郭天财, 高松洁, 等. 不同质地土壤冬小麦灌浆期籽粒蛋白质和淀粉含量变化动态[J]. *河南农业科学*, 2004(6): 12– 15.