

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2008.01644

小麦腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶同工酶基因型与酶活性及淀粉含量的关系

岳向文¹ 赵法茂² 李天骄¹ 王宪泽^{1,*}

(¹ 山东农业大学作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; ² 泰山学院生物系, 山东泰安 271021)

摘 要: 采用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定了我国 60 个代表性小麦品种的腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGP)同工酶基因型, 并测定了 AGP 活性及总淀粉含量, 以明确小麦籽粒 AGP 同工酶基因型组成及其与 AGP 活性和淀粉含量的关系。结果表明, AGP 有 AGPa、AGPb、AGPc 和 AGPd 4 个等位基因位点, 其出现频率分别为 96.7%、80.0%、86.7%和 16.7%; 共检测到 5 种基因型, 其中基因型 AGPabc 出现频率最高, 为 46.7%。不同基因型的品种间 AGP 活性和总淀粉含量差异显著($P<0.05$)。其中具有基因型 AGPabcd 的品种酶活性及总淀粉含量最高, 表明小麦籽粒中不同 AGP 同工酶基因型对酶活性及淀粉含量有不同遗传效应。

关键词: 普通小麦; 腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶; 基因型; 淀粉含量; 酶活性

Relationship of Isozyme Genotypes of AGP with Activity of AGP and Starch Content in Wheat Grain

YUE Xiang-Wen¹, ZHAO Fa-Mao², LI Tian-Jiao¹, and WANG Xian-Ze^{1,*}

(¹ State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong; ² Department of Biology, Taishan College, Tai'an 271021, Shandong, China)

Abstract: ADP-Glucose pyrophosphorylase(AGP) controls a rate-limiting step in the starch biosynthesis in developing wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds, therefore, determinately affecting seed sink strength. Evidence is presented for the existence of AGP isozymes in common wheat endosperm. Following an approach already shown to be successful in maize (*Zea mays* L.), native polyacrylamide gel electrophoresis (native PAGE) was designed to identify AGP isozyme patterns from crude enzyme preparations. To explore the relationship of isozyme genotypes with the starch content in wheat grains, activity of AGP and starch content were measured in 60 cultivars from 17 provinces in China. The results showed that there were four alleles, namely AGPa, AGPb, AGPc, and AGPd, with frequencies of 96.7%, 80.0%, 86.7%, and 16.7%, respectively. Five genotypes were determined in which AGPabc took on the highest frequency of 46.7% and AGPbc took on the lowest frequency of 3.3%. The activity of AGP and starch content in the cultivars with distinct genotypes were significantly different ($P<0.05$). The cultivars with genotype AGPabcd and AGPabc showed a high value of AGP activity and starch content. The lack of AGPa, AGPb, or AGPc in cultivars resulted in a low value of AGP activity and starch content. It indicated that different genotypes of AGP isozyme show distinct genetic impact on enzyme activity and starch content in common wheat.

Keywords: Common wheat (*Triticum aestivum* L.); ADP-Glucose pyrophosphorylase; Genotype; Starch content; Enzyme activity

淀粉占小麦籽粒干重的 70%左右, 淀粉含量直接决定小麦产量^[1]。在淀粉合成过程中, 腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGP)催化葡萄糖-1-磷酸(G-1-P)和三磷酸腺苷(ATP)合成腺苷二磷酸葡萄糖(ADPG),

并释放焦磷酸(PPi)^[2]。ADPG 作为活化葡萄糖基供体, 将糖基加到 α -1,4-葡聚糖引物的非还原端, 被淀粉合成酶催化形成淀粉。这一反应是植物光合和非光合组织淀粉合成的起始步骤, 是植物淀粉合成中

基金项目: 山东省科技厅“三 O”工程项目(2003-108); 泰山学院科研计划项目(P06-2-03)

作者简介: 岳向文(1983–), 男, 山东潍坊人, 硕士研究生, 研究方向为小麦品质生物技术改良。E-mail: sdau8243222@163.com

*通讯作者(Corresponding author): 王宪泽, 男, 教授, 博士生导师。Tel: 0538-8249697; E-mail: xzwang@sdau.edu.cn

Received(收稿日期): 2007-11-22; Accepted(接受日期): 2008-03-26.

重要的调控位点。反义 AGP 转基因异位表达及有关 AGP 活性的基因突变引起淀粉含量的下降, 都证明 AGP 在淀粉合成中的重要性^[3]。Shannon 等^[4]对玉米胚乳含糖(*su*)基因突变体 *brittle-1* 中 ADPG 合成的研究显示, *bt1* 种子中 ADPG 积累比正常种子高 13 倍以上, 其淀粉合成酶活性与正常玉米相同, 而 AGP 量却增加 1 倍。表明玉米种子内 ADPG 合成主要依靠 AGP。与此类似, 低活性 AGP 突变体表现出淀粉积累的减少。王月福等^[5]亦证明, 小麦籽粒中 AGP 活性与淀粉含量密切相关, 且呈正比关系。

高等植物中的 AGP 是由二大(IAGP)二小(sAGP)亚基组成的异源四聚体^[6]。Chen 等^[7]用 SDS-PAGE 法分析番茄果实内纯化的 AGP, 结果发现 AGP 呈现两条相邻的分子量分别为 50 kD 和 51 kD 的谱带; 进一步的双向电泳分析显示出 5 种蛋白斑点, 用不同来源的抗血清检测, 探明番茄果实内至少存在 3 种 IAGP 和 2 种 sAGP, 说明 AGP 存在不同形式的同工酶。

以往有关小麦 AGP 的研究主要集中在灌浆过程中酶活性的动态及其对淀粉含量的影响, 或与环境的互作等方面^[8], 而对小麦籽粒 AGP 同工酶研究较少, 特别是关于 AGP 同工酶种类以及同工酶影响淀粉积累等方面的研究一直未见报道。本研究采用 60 个代表性小麦品种, 分析其 AGP 同工酶基因型与 AGP 活性及淀粉含量的关系, 以期为提高小麦产量提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

60 个分布于全国各地的代表性品种(表 1), 由山东省小麦研究中心种质资源室提供。2006 年 10 月 9 日播种于山东农业大学教学实习农场土质均匀的地块, 每个品种点播面积 $3\text{ m} \times 2\text{ m} = 6\text{ m}^2$, 基本苗 120 株 m^{-2} , 管理措施同一般高产田。翌年小麦开花后, 选取生长一致的植株, 挂牌标记同一天开花的麦穗。于花后 20 d 取样, 取每穗中部籽粒, 经液氮速冻 20 min 后置 -60°C 超低温冰箱保存, 用于酶液提取。

1.2 粗酶液提取

参考 Gomez-Casati 等^[9]的方法, 稍作修改。称取 1 g 左右籽粒, 加 3 mL Tris-HCl (pH 7.5) 提取缓冲液(含 50 mmol L^{-1} Tris-HCl, 5 mmol L^{-1} CaCl₂, 5 mmol L^{-1} K-phosphate, 0.1 mmol L^{-1} EDTA, 10 mmol L^{-1} 巯基乙醇), 冰浴研磨至匀浆, 4°C 下 $12\,000 \times g$ 离

心 20 min。取上清液作为粗酶液备用。

1.3 AGP 活性测定

参照 Douglas 等^[10]的方法, 5 mmol L^{-1} ADPG $100\text{ }\mu\text{L}$ 加 50 mmol L^{-1} MgCl₂ $50\text{ }\mu\text{L}$ 、缓冲液 $100\text{ }\mu\text{L}$ 、酶提取液 $50\text{ }\mu\text{L}$, 以 20 mmol L^{-1} PPi $100\text{ }\mu\text{L}$ 起始反应; 反应 15 min 后, 沸水浴 1 min 终止反应, 冷却; 加 6 mmol L^{-1} NADP⁺ $100\text{ }\mu\text{L}$, 1.5 IU 磷酸葡萄糖变位酶, 5 IU mL^{-1} 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 $50\text{ }\mu\text{L}$, 0.3 mL 缓冲液, 总体积 0.9 mL , 30°C 反应 5~10 min 后, 340 nm 下比色, 用 G-1-P 做标准曲线。每组样品测定设置 3 个重复。

1.4 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和酶活性染色

参照 Davis 的方法^[11], 分离胶浓度 7.5%, 浓缩胶浓度 5%, 恒压 150 V, 上样量 $40\text{ }\mu\text{L}$ 。所有操作在 $0\sim 4^\circ\text{C}$ 下进行。AGP 的活性染色参考 Weaver 的方法^[12]。电泳结束后, 将凝胶置培养皿中, 去离子水浸泡 5 min, 加 HEPES-NaOH (pH 8.0) 反应液 25 mL (含 200 mmol L^{-1} HEPES、 20 mmol L^{-1} DTT、 0.5 mol L^{-1} CaCl₂、 0.5 mol L^{-1} MgCl₂、 $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ ATP、 $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ G-1-P), 于 37°C 保温 60 min, 反应结束后用蒸馏水冲洗凝胶, 电泳酶谱见图 1。

1.5 籽粒淀粉含量测定

称取供试品种成熟籽粒 50 g , 60°C 烘至恒重后备用。采用双波长法^[13]测定淀粉含量, 直链淀粉测定波长 632 nm , 参比波长 471 nm ; 支链淀粉测定波长 553 nm , 参比波长 740 nm 。每项测定 3 次, 每次设 3 个重复, 取平均值。

1.6 数据统计分析

使用 DPS 软件对数据进行方差分析, 采用 *t* 测验检验差异显著性, 采用 Duncan's 新复极差检测法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 AGP 等位基因位点及同工酶基因型检测

图 1 显示, AGP 有 4 个等位基因位点, 且在不同品种间具有多态性。

60 个样本中, 共检测到 4 个 AGP 等位基因位点(图 1), 因未见前人报道, 暂命名为 AGPa、AGPb、AGPc 和 AGPd。AGPa、AGPb 和 AGPc 出现频率较高, 分别为 96.7%、80.0% 和 86.7%(表 2), AGPd 出现频率最低, 为 16.7%。说明等位基因位点 AGPa、AGPb 和 AGPc 构成了大多数小麦品种的 AGP 基因型组成。

表 1 60 个小麦品种 AGP 位点基因型
Table 1 The genotypes of 60 wheat cultivars in AGP locus

No.	品种 Cultivar	来源 Origin	等位基因 Allele				酶活性 Enzyme activity ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW min}^{-1}$)	总淀粉含量 Content of total starch (%)
			AGPa	AGPb	AGPc	AGPd		
1	冀优 915 Gaoyou 915	河北 Hebei	+	+	+	—	18.97	76.28
2	石特 14 Shite 14	河北 Hebei	+	+	+	—	18.17	74.50
3	石 4185 Shi 4185	河北 Hebei	+	+	+	+	19.20	75.65
4	冀麦 2 号 Jimai 2	河北 Hebei	+	+	+	—	18.82	75.02
5	北京 8 号 Beijing 8	北京 Beijing	+	+	+	+	18.99	79.45
6	中优 9507 Zhongyou 9507	北京 Beijing	+	+	+	—	18.96	76.70
7	平阳 27 Pingyang 27	山西 Shanxi	+	+	—	—	18.20	72.63
8	晋麦 8 号 Jinmai 8	山西 Shanxi	+	+	+	—	18.31	75.15
9	鲁麦 14 Lumai 14	山东 Shandong	+	+	+	—	18.87	75.87
10	鲁麦 15 Lumai 15	山东 Shandong	+	—	+	—	17.57	68.51
11	鲁麦 16 Lumai 16	山东 Shandong	+	—	+	—	17.62	68.79
12	鲁麦 18 Lumai 18	山东 Shandong	+	+	+	—	18.24	75.30
13	鲁麦 21 Lumai 21	山东 Shandong	+	—	+	—	17.58	68.52
14	鲁麦 22 Lumai 22	山东 Shandong	+	—	+	—	18.00	69.57
15	鲁麦 23 Lumai 23	山东 Shandong	+	—	+	—	17.57	69.41
16	潍麦 8 号 Weimai 8	山东 Shandong	+	+	+	—	18.52	74.87
17	济宁 9608 Jining 9608	山东 Shandong	+	+	+	—	18.74	73.71
18	聊 9744 Liao 9744	山东 Shandong	+	+	+	+	18.84	74.77
19	PH82-2-2	山东 Shandong	+	+	+	+	18.90	77.48
20	PH92-6	山东 Shandong	+	+	+	—	18.64	72.49
21	德州 01-3 Dezhou 01-3	山东 Shandong	+	+	+	—	18.76	72.75
22	泰山 1 号 Taishan 1	山东 Shandong	+	—	+	—	17.29	68.55
23	泰山 5 号 Taishan 5	山东 Shandong	+	+	—	—	18.19	73.44
24	济南 16 Jinan 16	山东 Shandong	+	+	+	+	19.68	78.39
25	济南 17 Jinan 17	山东 Shandong	—	+	+	—	17.24	67.42
26	济南鉴 60 Jinanjian 60	山东 Shandong	+	+	+	—	18.50	75.29
27	烟农 15 Yannong 15	山东 Shandong	+	+	+	—	18.53	75.43
28	烟优 361 Yanyou 361	山东 Shandong	+	+	+	—	18.53	75.97
29	小偃 6 号 Xiaoyan 6	陕西 Shaanxi	+	+	+	—	18.67	75.40
30	小偃 54 Xiaoyan 54	陕西 Shaanxi	+	+	—	—	18.47	72.65
31	陕 31 Shaan 31	陕西 Shaanxi	+	+	+	—	19.35	76.59
32	陕农 981 Shaannong 981	陕西 Shaanxi	+	+	+	+	19.46	78.44
33	陕旱 8675 Shaanhan 8675	陕西 Shaanxi	+	+	+	+	19.28	79.37
34	泾阳 60 Jingyang 60	陕西 Shaanxi	+	+	+	—	18.53	72.29
35	老麦 Laomai	陕西 Shaanxi	+	+	+	+	19.67	77.70
36	豫麦 2 号 Yumai 2	河南 Henan	+	+	+	—	18.09	72.55
37	豫麦 14 Yumai 14	河南 Henan	+	—	+	—	17.13	68.53
38	豫麦 50 Yumai 50	河南 Henan	+	+	—	—	18.56	72.23
39	漯麦 16 Luomai 16	河南 Henan	+	+	+	+	19.95	78.39
40	兰考 861797 Lankao 861797	河南 Henan	+	—	+	—	17.22	69.73
41	郑州 6 号 Zhengzhou 6	河南 Henan	+	+	+	—	18.71	75.60
42	内乡 5 号 Neixiang 5	河南 Henan	+	+	—	—	18.27	72.40
43	周麦 18 Zhoumai 18	河南 Henan	+	—	+	—	17.54	70.18
44	鹤麦 046 Hemai 046	河南 Henan	+	+	—	—	18.14	70.57
45	华东 6 号 Huadong 6	江苏 Jiangsu	+	—	+	—	17.30	70.13
46	皖麦 19 Wanmai 19	安徽 Anhui	+	+	—	—	18.23	72.76
47	皖麦 38 Wanmai 38	安徽 Anhui	+	—	+	—	17.00	68.09
48	皖麦 42 Wanmai 42	安徽 Anhui	+	+	+	—	18.52	74.09

(续表 1)

No.	品种 Cultivar	来源 Origin	等位基因 Allele				酶活性 Enzyme activity ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW min}^{-1}$)	总淀粉含量 Content of total starch (%)
			AGPa	AGPb	AGPc	AGPd		
49	安徽 3 号 Anhui 3	安徽 Anhui	+	+	+	—	18.20	74.50
50	鄂麦 6 号 Emai 6	湖北 Hubei	+	+	+	—	18.67	75.66
51	繁 6 Fan 6	四川 Sichuan	+	+	+	+	19.81	77.25
52	川麦 36 Chuanmai 36	四川 Sichuan	+	+	+	—	18.53	75.00
53	蜀万 8 号 Shuwan 8	四川 Sichuan	+	+	+	—	18.26	75.24
54	贵农 10 号 Guinong 10	贵州 Guizhou	+	—	+	—	17.01	71.33
55	云麦 34 Yunmai 34	云南 Yunnan	—	+	+	—	17.28	69.40
56	甘麦 8 号 Ganmai 8	甘肃 Gansu	+	+	+	—	18.83	75.60
57	宁春 4 号 Ningchun 4	宁夏 Ningxia	+	+	+	—	18.53	75.00
58	高原 506 Gaoyuan 506	青海 Qinghai	+	+	+	—	18.59	74.36
59	晋麦 2148 Jinmai 2148	福建 Fujian	+	+	—	—	18.37	73.50
60	台中 23 Taizhong 23	台湾 Taiwan	+	+	+	—	18.85	75.79

“+”和 “—” 分别表示该等位基因存在和缺失。“+” and “—” represent the exists and absence of the allele, respectively.

表 2 AGP 同工酶等位基因位点及出现频率
Table 2 The allele loci and frequencies of AGP isozymes

AGP 等位基因位点 Allele loci of AGP	位点数 No. of alleles	等位基因频率 Frequency of alleles (%)
AGPa	58	96.7
AGPb	48	80.0
AGPc	52	86.7
AGPd	10	16.7

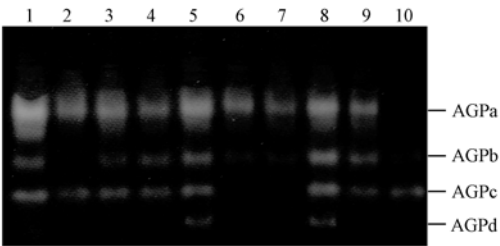


图 1 部分小麦品种 AGP 电泳图谱

Fig. 1 AGP electrophoretogram of some wheat cultivars

1: 潍麦 8 号; 2: 冀优 915; 3: 烟农 15; 4: 小偃 6 号; 5: 漯麦 16; 6: 晋麦 2148; 7: 豫麦 50; 8: 陕早 8675; 9: 济南鉴 60; 10: 云麦 34.
1: Weimai 8; 2: Gaoyou 915; 3: Yannong 15; 4: Xiaoyan 6; 5: Luomai 16; 6: Jinmai 2148; 7: Yumai 50; 8: Shaanhan 8675; 9: Jinanjian 60; 10: Yunmai 34.

共检测到 5 种基因型组合, 其类型和出现频率见表 1 和表 3。各基因型最少由 2 种等位基因位点组成, 最多包含 4 种等位基因位点, 没有检测到由单一等位基因位点组成的基因型。在检测到的 5 种基因型中, AGPabc 出现频率最高, 为 46.7%; 基因型 AGPac、AGPabcd 和 AGPab 出现频率较低, 分别为 20.0%、16.7%和 13.3%; AGPbc 是唯一不包含 AGPa 等位基因位点的基因型, 出现频率最低, 占样本总数的 3.3%, 具有该基因型的品种为云麦 34 和济南

17。从表 2 和表 3 看出, AGPa、AGPb 和 AGPc 出现在大多数基因型中, 尤其是 AGPa 出现频率高达 96.7%, 对基因型形成贡献最大; 另外, 在供试品种的所有基因型中, 至少存在等位基因位点 AGPa、AGPb 和 AGPc 中的两个。由此可见, 等位基因位点 AGPa、AGPb 和 AGPc 在 ADPG 合成过程中起重要作用。

表 3 AGP 位点基因型及出现频率
Table 3 The genotypes and frequencies of AGP locus

类型 Type	基因型 Genotype	品种数 No. of cultivars	基因型频率 Frequency of genotypes (%)
I	AGPabc	28	46.7
II	AGPac	12	20.0
III	AGPabcd	10	16.7
IV	AGPab	8	13.3
V	AGPbc	2	3.3

2.2 不同基因型对 AGP 活性及淀粉含量的遗传效应分析

表 4 显示, 5 种基因型品种间的 AGP 活性及淀粉含量在 5%水平上差异显著, 表明不同基因型对 AGP 活性及淀粉含量有不同遗传效应。基因型 AGPabcd 和 AGPabc 对应的品种具有较高 AGP 活性, 共 38 个, 占供试品种的 63.3%。不同基因型品种间 AGP 活性在表达高峰时存在差异, 酶活性高低又直接影响籽粒淀粉含量。进一步观察发现, AGPabcd 是唯一含等位基因位点 AGPd 的基因型, 其对应品种酶的活性及淀粉含量最高, 初步说明等位基因位点 AGPd 对酶活性可能有重要影响。鉴于本试验采用非

变性聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法,条带亮度反映了该酶活性的高低。图1显示,AGPa条带最亮,AGPb、AGPc和AGPd次之,从表4看出,当AGPa、AGPb和AGPc等位基因位点同时出现时,品种酶活性和淀粉含量明显高于其他品种,而缺乏其中一个都对品种AGP活性及淀粉含量造成显著影响,尤其是缺乏AGPa等位基因位点的品种酶活性最低。进一步

分析得知,AGPa、AGPb和AGPc同时存在时,AGPd的出现显著提高了籽粒淀粉含量。表明多个等位基因位点联合产生遗传效应时,AGPd等位基因位点发挥了重要作用。这初步揭示可根据AGPd等位基因位点的有无判断小麦品种淀粉含量的高低,但供试品种中AGPd出现频率较低,这种相关性有待进一步研究。

表4 AGP同工酶基因型对酶活性及总淀粉含量的遗传效应分析
Table 4 Genetic effects of genotypes on AGP activity and the content of total starch

基因型 Genotype	品种数 No. of cultivars	酶活性 Enzyme activity ($\text{U g}^{-1} \text{FW min}^{-1}$)	总淀粉含量 Content of total starch (%)
AGPabcd	10	$19.38 \pm 1.23 \text{ a}$	$77.68 \pm 4.82 \text{ a}$
AGPabc	28	$18.61 \pm 1.22 \text{ ab}$	$74.93 \pm 5.51 \text{ ab}$
AGPab	8	$18.33 \pm 0.80 \text{ b}$	$72.61 \pm 5.17 \text{ bc}$
AGPac	12	$17.40 \pm 1.39 \text{ c}$	$69.29 \pm 6.04 \text{ cd}$
AGPbc	2	$17.26 \pm 0.62 \text{ c}$	$68.41 \pm 1.66 \text{ d}$

表中数据为3次重复的平均值 \pm 标准差。数据后不同字母表示不同基因型品种酶活性及淀粉含量在0.05水平上差异显著。

Data in the last 2 columns are mean \pm SD. Values followed by the same letter are not significantly different at $P<0.05$ according to Duncan's test.

3 讨论

小麦籽粒发育过程中,AGP活性表达高峰期在花后20 d前后^[14],因此本试验采用花后20 d的小麦籽粒进行酶活性测定及基因型鉴定。Tetlow等^[15]研究了AGP在小麦胚乳中的亚细胞定位,将胚乳细胞中造粉体分离,发现存在“质体内”(plastidial form)与“质体外”(cytosolic form)两类酶学特征具有差异的AGP,可见小麦胚乳中存在不同形式的同工酶。Weaver等^[12]根据AGP酶促反应特点,摸索出一套针对玉米籽粒AGP的活性染色方法,用来鉴定shrunk-2、brittle-2两个突变体与普通玉米胚乳细胞AGP的差别,电泳酶谱表明,突变体与普通玉米共计出现4种AGP同工酶。由此可见,AGP同工酶普遍存在于作物籽粒中。本试验对Weaver的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳方法适当修改后,在小麦籽粒中检测到4种AGP同工酶,初步明确了我国小麦品种AGP同工酶的数量,其命名以及亚细胞定位尚需进一步研究。

Smidansky等^[16]将改良过的玉米AGP大亚基基因Sh2r6hs转入小麦并表达,发现虽然AGP活性水平与普通玉米一致,但每株的籽粒产量和植株的生物量均有增加(增加量分别为38%和31%)。Greene提出,大亚基是AGP的调节部位,具有识别小分子量调节因子的功能^[17]。本研究中,AGPd等位基因位点

对应的条带亮度相对较弱,而AGPabcd基因型对应品种的淀粉含量与AGPabc相比差异显著,因此推测AGPd等位基因位点对应的同工酶可能包含特殊的大亚基结构,对小分子量调节因子比较敏感。Blake等^[18]提出,小麦AGP小亚基的编码基因分布于7A、7B和7D染色体上,本试验证明小麦籽粒中AGP具有多个等位基因位点,然而各位点尚需进一步精确定位。

自从AGP被确定为淀粉合成过程中的限速酶以来^[19],大量实验证明作物籽粒中AGP活性高低直接决定淀粉含量^[20]。Smidansky等^[21]认为,作物籽粒中AGP活性与淀粉含量成正比,提高AGP活性有利于提高产量。本试验结果表明,各种基因型对AGP活性和淀粉含量的影响是同步的,这不仅反映出AGP对淀粉含量的直接作用,更进一步阐述AGP同工酶与小麦籽粒淀粉积累的重要关系。本试验从生化水平鉴定了小麦品种AGP同工酶基因型组成,分析了其对酶活性及淀粉含量的遗传效应,可为遗传育种筛选不同淀粉含量的小麦品种提供依据。Hannah等^[22]提出,在玉米籽粒中,不同AGP基因型组成影响玉米产量,具有3个AGP等位基因位点的玉米品种在产量上明显高于只有两个AGP等位基因位点的玉米品种。本研究结果显示,不同AGP基因型品种间淀粉含量差异显著,预示其对籽粒产量会产生重要影响。

4 结论

在小麦胚乳中, 检测到4种类型的AGP同工酶, 其等位基因位点组成了5种基因型, 不同基因型对小麦籽粒AGP活性和淀粉含量具有不同遗传效应。

References

- [1] Xiong Y(熊瑛), Li Y-J(李友军), Guo T-C(郭天财). Research actuality of enzymes for starch synthesis. *J Henan Univ Sci Technol*(河南科技大学学报), 2004, 24(2): 6-9(in Chinese with English abstract)
- [2] Gao Z-Y(高振宇), Huang D-N(黄大年). The key enzyme of starch synthesis in plants: I. AGP. *Chem Life* (生命的化学), 1998, 18(3): 26-29(in Chinese)
- [3] Ballicora M A, Fu Y B, Nesbitt N M, Preiss J. ADP-glucose pyrophosphorylase from potato tubers: Site-directed mutagenesis studies of the regulatory sites. *Plant Physiol*, 1998, 118: 265-274
- [4] Shannon J C, Pien F M, Liu K C. Nucleotides and nucleotide sugars in developing maize endosperms (synthesis of ADP-glucose in *brittle-1*). *Plant Physiol*, 1996, 110: 835-843
- [5] Wang Y-F(王月福), Yu Z-W(于振文), Li S-X(李尚霞). Activity of enzymes related to starch synthesis and their effect during the filling of winter wheat. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2003, 29(1): 75-81(in Chinese with English abstract)
- [6] Ballicora M A, Iglesias A A, Preiss J. ADP-glucose pyrophosphorylase: A regulatory enzyme for plantstarch synthesis. *Photosynthesis Res*, 2004, 79: 1-24
- [7] Chen B Y, Janes H W. Activity of starch synthase and the amylose content in rice. *Plant Physiol*, 1997, 113: 235-342
- [8] Gao S-J(高松洁), Guo T-C(郭天财), Yan L-Y(阎凌云), Wang Y-J(王应君), Han J-F(韩锦峰). Changes in activities of enzymes involved in starch synthesis during grain filling of winter wheat cultivars with different gluten contents in the different soils. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30(5): 470-474(in Chinese with English abstract)
- [9] Gomez-Casati D F, Iglesias A A. ADPG-glucose pyrophosphorylase from wheat endosperm. Purification and characterization of an enzyme with novel regulatory properties. *Planta*, 2002, 214: 428-434
- [10] Douglas C, Tsung M K, Frederick C. Enzymes of sucrose and hexose metabolism in developing kernels of two inbreds of maize. *Plant Physiol*, 1988, 86: 1031-1019
- [11] Davis B J. Disc electrophoresis II method and application of human serum proteins. *Ann NY Acad Sci*, 1964, 121: 404-427
- [12] Weaver S H, Glover D V, Tsai C Y. Nucleoside diphosphate glucose pyrophosphorylase isoenzymes of developing normal, *brittle-2*, and *sbrunken-2* endosperms of *Zea mays* L. *Crop Sci*, 1972, 12: 510-514
- [13] He Z-F(何照范). Analysis Technique for Grain Quality in Cereals and Oils(粮油籽粒品质及其分析技术). Beijing: Agriculture Press, 1985. pp 144-294 (in Chinese)
- [14] Jiang D, Cao W X, Dai T B, Jing Q. Activities of key enzymes for starch synthesis in relation to growth of superior and inferior grains on winter wheat (*Triticum aestivum* L.) spike. *Plant Growth Regul*, 2003, 41: 247-257
- [15] Tetlow L J, Davies E J, Vardy K A, Bowsher C J, Burrell M M, Emes M J. Subcellular localization of ADP glucose pyrophosphorylase in developing wheat endosperm and analysis of the properties of a plastidial isoform. *J Exp Bot*, 2003, 54: 715-725
- [16] Beecher B, Bettge A D, Smidansky E, Giroux M J. Expression of wild-type pinB sequence in transgenic wheat complements a hard phenotype. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 870-877
- [17] Smidansky E D, Meyer F D, Blakeslee B, Weglarz T E, Greene T W, Giroux M J. Expression of a modified ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit in wheat seeds stimulates photosynthesis and carbon metabolism. *Planta*, 2007, 225: 965-976
- [18] Blake N A, Sherman J D, Dvorak J, Talbert L E. Genome-specific primer sets for starch biosynthesis genes in wheat. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1295-1302
- [19] Cheng F M, Zhong L J, Zhao N C, Liu Y, Zhang G P. Temperature induced changes in the starch components and biosynthetic-enzymes of two rice varieties. *Plant Growth Regul*, 2005, 46: 87-95
- [20] Zhao J-Y(赵俊晔), Yu Z-W(于振文), Sun H-M(孙慧敏), Ma X-H(马兴华), Sun Q(孙强). Differences in starch components and related enzymes activity in the grains of different wheat cultivars. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30(6): 525-530 (in Chinese with English abstract)
- [21] Smidansky E D, Martin J M, Hannah L C, Fischer A M, Giroux M J. Seed yield and plant biomass increases in rice are conferred by deregulation of endosperm ADP-glucose pyrophosphorylase. *Planta*, 2003, 216: 656-664
- [22] Hannah L C, Nelson O E Jr. Characterization of adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylases from developing maize seeds. *Plant Physiol*, 1975, 55: 297-302