

云南野生稻籽粒淀粉合成关键酶活性测定

彭波^{1,2}, 陈瑞^{2,3}, 史冬燕⁴, 黄兴奇², 刘小烛¹, 程在全^{2*}

(1. 西南林学院 资源学院, 昆明 650224; 2. 云南省农业科学院 生物技术与种质资源研究所 农业生物技术重点实验室, 昆明 650223; 3. 云南大学 生命科学学院, 昆明 650091; 4. 菏泽学院 生命科学系, 山东 菏泽 274015)

摘要: 为研究云南3种野生稻直链淀粉合成机制并利用其直链淀粉含量较低的优良品质,以云南3种野生稻和4种当地栽培稻为材料,研究野生稻灌浆期籽粒4种淀粉合成关键酶(包括ADPG 焦磷酸化酶、可溶性淀粉合成、颗粒凝结型淀粉合成酶、淀粉分支酶)活性变化。结果表明,野生稻中4种淀粉合成酶的变化趋势与栽培稻相似,但活性有较大差别。颗粒凝结型淀粉合成酶的活性与直链淀粉含量呈正相关,说明在野生稻中同样是由颗粒凝结型淀粉合成酶控制直链淀粉的合成。同时发现在同一灌浆期,同种材料中可溶性淀粉合成酶和淀粉分支酶的活性变化呈相反趋势,推测这两种酶之间可能在淀粉合成过程中存在某种反馈调节机制。

关键词: 野生稻; 直链淀粉; 淀粉合成酶; 籽粒

中图分类号: Q945.18 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2008)06-0800-06

Activity assay of grain starch synthesis key enzymes in wild rice species of Yunnan

PENG Bo^{1,2}, CHEN Rui^{2,3}, SHI Dong-Yan⁴,
HUANG Xing-Qi², LIU Xiao-Zhu¹, CHENG Zai-Quan^{2*}

(1. College of Natural Resources, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. The Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Research Institute of Biotechnology & Genetic Germplasm, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China; 3. School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China; 4. Department of Life Sciences, Heze College, Heze 274015, China)

Abstract: In order to investigate the amylose synthesis mechanism of the three wild rice species originating from Yunnan so as to utilize the good quality trait of the low amylose content of these wild rice species, four key enzymes (ADPG pyrophosphorylase (ADPGP), soluble starch synthase (SSS), granule bound starch synthase (GBSS), starch branching enzyme (Q-enzyme)) activities in three wild rice species and four cultivar rice varieties of Yunnan were assayed during grain filling stages. The result indicated that four key enzymes had similar change trend, but had big differences in the activity among the different wild rice species and the cultivars. It was found that GBSS activity assay in wild rice also had positive relation with amylose content. This indicated that in wild rice the seed amylose synthesis is also controlled by granule bound starch synthase. It is also found that SSS and Q-enzyme showed opposition change trend in terms of activity during the grain filling stage. It may suggest these two enzymes had some feedback suppression effect on regulation of starch synthesis.

Key words: wild rice; amylose; starch synthesis enzymes; seed

收稿日期: 2007-08-17 修回日期: 2008-04-18

基金项目: 云南省重点基金(2004C0010Z); 云南省基金面上项目(2005C0063M); 云南省科技攻关项目(2006NG34); 国家自然科学基金(30460019) [Supported by the Key Project of Science Foundation of Yunnan Province(2004C0010Z); General Project of Science Foundation of Yunnan Province(2005C0063M); Key Technologies Research and Development Program of Yunnan(2006NG34); the National Natural Science Foundation of China(30460019)]

作者简介: 彭波(1980-), 男, 河南信阳人, 硕士研究生, 研究方向为植物生物技术, (E-Mail) pengbo1015@yahoo.com.cn.

* 为通讯作者(Author for correspondence, E-mail: czquan-99@163.com)

水稻是最重要的粮食作物之一,世界上约有一半以上的人口以稻米为主食(武波等,2006),而90%的水稻种植者和消费者在亚洲。随着人们生活水平的提高,人们对稻米品质的需求也越来越高。在稻产区,稻米提供人们所需能量的60%~70%和蛋白质的50%~60%。因此,稻米品质的好坏与人类健康有着直接的关系。云南稻属(*Oryza*)分布于亚洲、非洲、大洋洲和美洲的热带和亚热带地区,目前认为有22个种(Chang等,1985)。云南是世界公认的亚洲栽培稻起源中心及多样性中心的一部分,有着丰富的野生生物种资源,仅野生稻就具有3种,即普通野生稻(*O. rufipogon*)、药用野生稻(*O. officinalis*)和疣粒野生稻(*O. granulata*)。它们均被定为二级保护濒危植物(傅立国等,1992)。而云南野生稻的种类、亚种、生态类型数量均为全国之首(范树国等,2000)。

在水稻籽粒中淀粉一般占糙米量的90%以上,其物理、化学特性与稻米的蒸煮食味品质密切相关(Han等,2001)。而稻米淀粉由直链淀粉和支链淀粉两种类型组成,其中直链淀粉的含量、比例对稻米的品质影响最大。因此,直链淀粉的含量已成评价水稻品质的重要指标之一(Tan等,2002;Lim等,1995)。而淀粉的合成是一个十分复杂的过程,需要多种酶的参与,在灌浆期淀粉合成和积累过程中ADPG焦磷酸化酶(ADPGP)、可溶性淀粉合成酶

(SSS)、颗粒凝结型淀粉合成酶(GBSS)和淀粉分支酶(Q酶)起主要作用。以前的研究表明,ADPG焦磷酸化酶、可溶性淀粉合成酶、颗粒凝结型淀粉合成酶、淀粉分支酶等是控制水稻籽粒淀粉合成代谢、影响淀粉品质的几个关键酶(Nakamura等,1992),它们在栽培稻(Li等,2001;李天等,2005;Ahmadi等,2001;Cheng等,2005)、小麦(Kumar等,1980)、玉米(Doehlert,1993)、马铃薯(Van等,1987)等作物中的研究较多,但野生稻中上述4种直链淀粉合成关键酶的情况还未见报道。

本研究用云南3种野生稻和4种地方栽培稻为材料,初步探讨在野生稻灌浆早期、中期和晚期,4种酶(ADPGP、SSS、GBSS、Q酶)与淀粉含量的关系,尤其是与直链淀粉含量的关系。并试图弄清在野生稻中直链淀粉的含量是否是由GBSS酶的活性不同而引起。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料是云南3种野生稻和4种直链淀粉含量较高的地方栽培稻,它们如表1中的品种所示。所有材料均取于云南省元江县农科所试验田内,在相同的自然条件下栽培(水稻灌浆及成熟时期的月平均气温为26.4~28.6℃),生长期进行一致的

表1 云南野生稻和部分栽培稻直链淀粉含量
Table 1 Amylose content in seeds of different wild rice species and cultivars in Yunnan

样品 Samples	普通野生稻 <i>O. rufipogon</i>	药用野生稻 <i>O. officinalis</i>	疣粒野生稻 <i>O. granulata</i>	后736/KM670 Hou736/KM670	展6 Zhan 6	滇超6 Dianchao 6	合系41 Hexi 41
直链淀粉含量 Amylose content (%)	11.99±0.3	9.7±0.2	11.28±0.2	15.5±0.1	18.0±0.2	16.9±0.3	19.23±0.2

田间管理。

1.2 取样方法

在云南3种野生稻和4种地方栽培稻的开花初日分别挂牌标记植株,于开花后10、20、30 d在长势一致的标记植株中随机选取5棵,在每植株上分别取穗中上部灌浆基本一致的籽粒20~25粒。液氮速冻后,分别储存于-70℃冰箱,至材料取全进行酶活性测定。

1.3 测定方法

从云南3种野生稻和4种地方栽培稻中分别随机选取在灌浆早期(开花后10 d)、中期(开花后20 d)和晚期(开花后30 d)的籽粒各20粒后分别提取

粗酶液,然后进行4种淀粉合成关键酶的活性测定。其中每个样品重复测试2次,共测试4种关键酶3个时期的活性,而每种酶的活性测定时取3次数据。即每个样品的每种酶在同一时期共获得9个数据后用EXCEL软件计算其标准偏差值和平均值并作图,用SPSS 13.0软件进行相关性分析。

1.3.1 粗酶液的提取 按Nakamura等(1989)的方法籽粒去壳称重,加5 mL提取液(含100 mmol·L⁻¹ Tricine-NaOH(pH=7.5),8 mmol·L⁻¹ MgCl₂,2 mmol·L⁻¹ EDTA,12.5%(V/V)Glycerol;1%(w/v)PVP-40,50 mmol·L⁻¹ 2-Mercap-toethanol)磨成均浆,30 000×g离心10 min,收集上清液置冰中,作为粗

酶液备用。沉淀用 5 mL 提取液重新悬浮以备淀粉粒结合淀粉合成酶测定。

1.3.2 酶活性的测定 测定方法按 Nakamura 等(1989)的方法。ADPG 焦磷酸化酶活性的测定,取 20 μL 粗酶液加入 110 μL 反应液中(反应液含终浓度 100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HEPES- NaOH ($\text{pH}=7.5$), 1.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ADPG, 3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PPi , 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTT), 30 $^\circ\text{C}$ 反应 20min,沸水中终止反应 30 s, 10 000 $\times g$, 10 min;取上清液 100 μL 加 5.2 μL 比色液(5.76 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NADP, 0.08 unit P-gucomutase, 0.07 unit G6P-dehydrogenase), 30 $^\circ\text{C}$ 反应 10 min,测定 340 nm OD 值。

可溶性淀粉合成酶(SSS)活性的测定,取 20 μL 粗酶液加入 36 μL 反应液(反应液含终浓度为 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HEPES- NaOH ($\text{pH}=7.5$), 1.6 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ADPG, 0.7 mg amylopectin, 15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTT)。30 $^\circ\text{C}$ 反应 20 min,沸水中终止反应 30 s,冰浴冷却;加 20 μL 反应液(含 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HEPES- NaOH ($\text{pH}=7.5$), 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PEP, 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCL, 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 1.2 unit Pyruvate Kinase), 30 $^\circ\text{C}$ 反应 20 min,沸水中终止反应, 10 000 $\times g$ 离心 10 min。取上清液 60 μL 与 43 μL 反应液(50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HEPES- NaOH ($\text{pH}=7.5$), 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Glucose, 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NADP, 1.4 unit Hexokinase, 0.35 unit G6P-dehydrogenase), 30 $^\circ\text{C}$ 反应 10 min,测定 340 nm OD 值的变化。

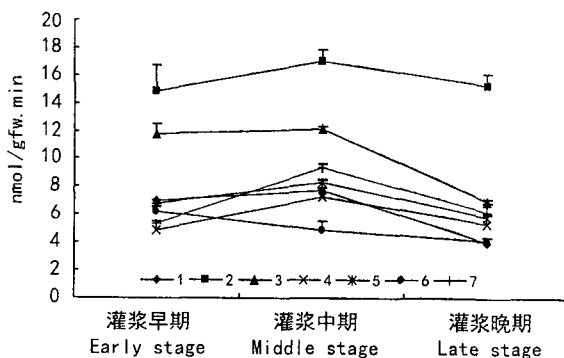


图1 野生稻和栽培稻 ADPG 酶活性比较

Fig. 1 ADPG enzyme ability in seeds of different species of wild rice and cultivars

1. 普通野生稻; 2. 药用野生稻; 3. 疣粒野生稻; 4. 展6;
5. 滇超6; 6. 合系41; 7. 后736/KM670。下同。
1. *O. rufipogon*; 2. *O. officinalis*; 3. *O. granulata*; 4. Zhan 6;
5. Dianchao 6; 6. Hexi 41; 7. Hou 736/KM 670.

颗粒凝定型淀粉合成酶(GBSS)活性的测定,取

20 μL 沉淀悬浮液,其余步骤同可溶性淀粉合成酶活性的测定。Q 酶活性的测定按李太贵等(1997)方法进行,取去壳籽粒 0.1 g 用 2.5 mL 0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液($\text{pH}7.0$)在冰浴中研磨匀浆,然后在 18 000 $\times g$ 下离心 20 min,上清液即为酶液,测定时取酶液 150 μL ,加 150 μL 0.2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液($\text{pH}7.0$)、75 μL 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA、40 μL 7.5 g/L 可溶性淀粉,在 37 $^\circ\text{C}$ 水浴中加热 40 min,再加 24 μL 碘液显色 10 min,在 660 nm 处测 OD 值,以零时为对照,Q 酶活性以 OD 660nm 下降的百分率表示: $\Delta\text{OD}_{660} = (\text{OD}_{660 \text{ 零时}} - \text{OD}_{660 \text{ t}}) / \text{OD}_{660 \text{ 零时}} \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 淀粉合成酶活性测定

2.1.1 ADPG 焦磷酸化酶活性变化 ADPG 焦磷酸化酶(ADPGP)在 3 种野生稻中的变化趋势与 4 种栽培稻中基本相同,都呈单峰曲线变化。除合系 41 外,ADPG 焦磷酸化酶活性在灌浆中期都达到峰值,然后逐渐下降。在药用野生稻和疣粒野生稻中,ADPG 焦磷酸化酶活性都要比 4 种栽培稻的要高。特别是在药用野生稻中,ADPG 焦磷酸化酶活性几乎达到了栽培稻的 1.5~2 倍左右。而且在药用野生稻中,整个灌浆期中 ADPG 焦磷酸化酶活性都保持在较高水平,疣粒野生稻在灌浆末期其 ADPG 焦磷酸化酶活性下降较快。但是元江普通野生稻与 4 种栽培稻的 ADPG 焦磷酸化酶活性几乎在同一水平,它们之间的差异不明显(图 1)。这可能表示药用野生稻和疣粒野生稻的灌浆速率较高,从而使这两种野生稻在短时间内就能够完成灌浆。

2.1.2 可溶性淀粉合成酶(SSS)活性变化 可溶性淀粉合成酶活性的变化曲线与 ADPG 焦磷酸化酶活性变化曲线存在明显的不同。除合系 41 的峰值出现在中期外,其余品种的可溶性淀粉合成酶活性都出现在早期,然后开始逐渐下降。在展 6 的灌浆晚期其曲线还有回升。在云南 3 种野生稻中,可溶性淀粉合成酶活性变化趋势与 4 种云南地方栽培稻相同。3 种野生稻中,可溶性淀粉合成酶活性整体要低于栽培稻,而在疣粒野生稻和药用野生稻表现尤为明显(图 2)。普通野生稻在灌浆早期和 4 种栽培稻的可溶性淀粉合成酶的活性相当,但是在灌浆中期却下降到与疣粒野生稻和药用野生稻的水平。

在灌浆的中期和晚期, 3 种野生稻的可溶性淀粉合成酶明显低于 4 种栽培稻。通过对这几种水稻可溶性淀粉合成酶活性的测定, 没有发现可溶性淀粉合成酶与直链淀粉含量存在相关性。

2.1.3 Q 酶活性变化 Q 酶在云南 3 种野生稻和 4 种地方栽培稻中表现出的变化趋势基本相同。该酶活性在灌浆早期较低(除了药用野生稻和展 6 外)然后逐渐升高, 在灌浆中期达到峰值后逐渐下降, 其变化趋势呈单峰曲线。药用野生稻在灌浆早期和中期 Q 酶活性都维持在较高水平, 然后迅速下降。并且药用野生稻和疣粒野生稻在灌浆中期时, Q 酶活性明显高于栽培稻和元江普通野生稻, 药用野生稻的 Q 酶尤为突出。通过对 3 种云南野生稻和 4 种栽培稻的 Q 酶活性的测定, 没有发现 Q 酶与直链淀粉含量存在相关性(图 3)。

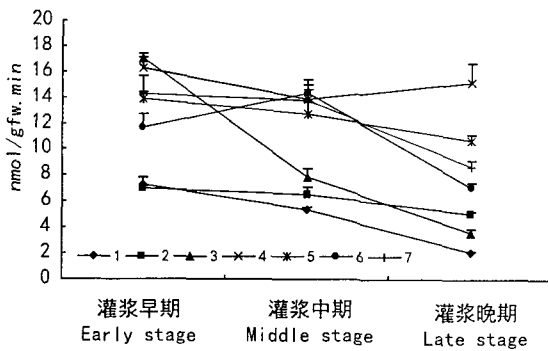


图 2 野生稻和栽培稻 SSS 酶活性比较
Fig. 2 SSS enzyme ability in seeds of different wild rice species and cultivars

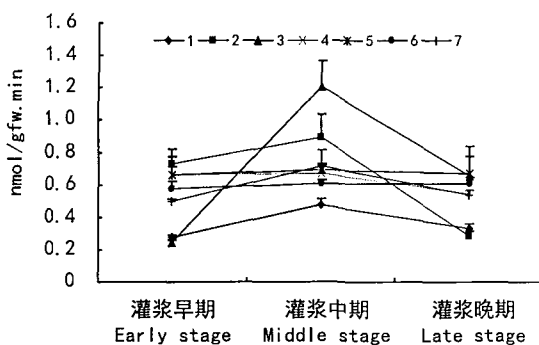


图 3 野生稻和栽培稻 Q 酶活性比较
Fig. 3 Q enzyme ability in seeds of different wild rice species and cultivars

2.1.4 颗粒凝结型淀粉合成酶(GBSS)活性变化 颗粒凝结型淀粉合成酶活性在云南 3 种野生稻和 4 种地方栽培稻中变化趋势相同。灌浆早期比较低然后

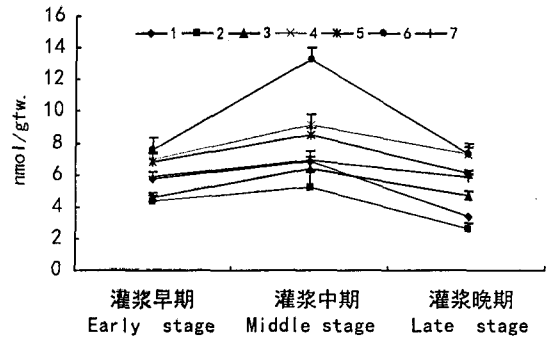


图 4 野生稻和栽培稻 GBSS 酶活性比较
Fig. 4 GBSS enzyme ability in seeds of different species of wild rice and cultivars

升高, 达到峰值后开始下降。在云南 3 种野生稻中颗粒凝结型淀粉合成酶的活性明显低于栽培稻, 而药用野生稻表现极为突出。用 SPSS 13.0 软件对颗粒凝结型淀粉合成酶与直链淀粉含量的进行相关性分析表明: 云南 3 种野生稻和 4 种栽培稻与其对应的直链淀粉的含量都呈正相关, 其中药用野生稻呈显著相关($r=0.94738$)。在 3 种野生稻中, 元江普通野生稻直链淀粉含量最高, 疣粒野生稻次之, 药用野生稻最低。这 3 种野生稻的颗粒凝结型淀粉合成酶的活性大小也是如此: 元江普通野生稻颗粒凝结型淀粉合成酶活性最高, 疣粒野生稻次之, 药用野生稻最低(图 4)。这表明在云南 3 种野生稻中直链淀粉的含量也是由 GBSS 控制。

2.2 可溶性淀粉合成酶(SSS)和 Q 酶活性的比较

在云南 3 种野生稻和 4 种地方栽培稻中, 将 SSS 和 Q 酶在灌浆早期、中期、晚期的活性进行比较分析。发现 SSS 和 Q 酶活性的变化存在下列变化趋势: 若 SSS 的活性高, Q 酶的活性就较低; 若 Q 酶的活性高, 则 SSS 的活性就较低。即 SSS 和 Q 酶的活性呈相反变化趋势(图 5~7)。分别对上述 SSS 和 Q 酶活性进行相关性分析, 得到相关系数, 其系数在不同野生稻间也存在较大差异(表 2)。其中在灌浆早期和中期, SSS 和 Q 酶呈负相关, 疣粒野生稻在灌浆早期呈极显著负相关(-0.96301)。灌浆中期除了普通野生稻外也都呈显著负相关。在灌浆晚期中普通野生稻和后 736/KM670 呈显著负相关, 而疣粒野生稻呈极显著负相关(-0.967425)。

3 讨论与结论

许多研究已报道了一些栽培稻和其它作物如小

麦灌浆过程中各种淀粉合成酶活性的变化。ADPG 焦磷酸化酶催化淀粉粒中淀粉合成的第一步反应,被认为是淀粉生物合成的限速酶(Cathie 等,1995)。ADPG 焦磷酸化酶与籽粒淀粉积累速率、籽粒灌浆

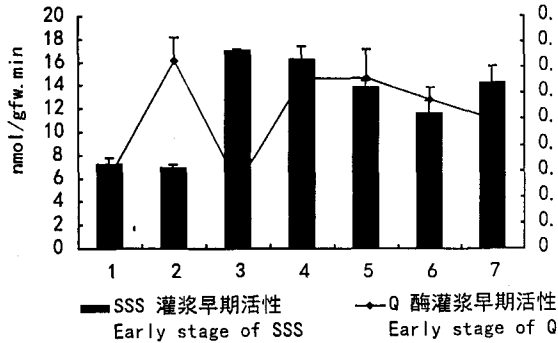


图5 灌浆早期 SSS 和 Q 酶活性比较
Fig. 5 Comparison of SSS and Q enzyme activities through the early filling stage

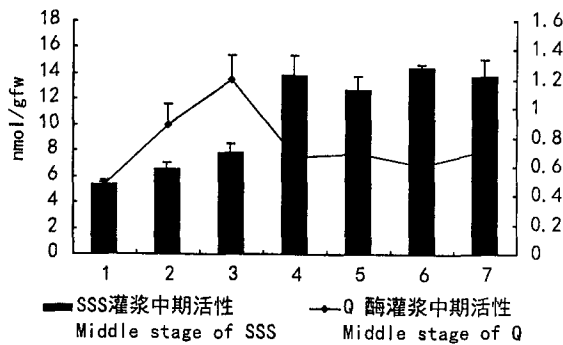


图6 灌浆中期 SSS 和 Q 酶活性比较
Fig. 6 Comparison of SSS and Q enzyme activities through the middle filling stage

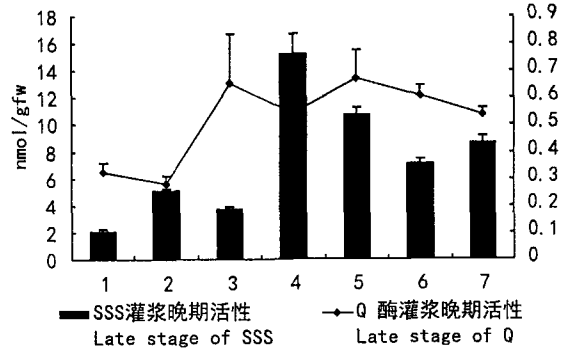


图7 灌浆晚期 SSS 和 Q 酶活性比较
Fig. 7 Comparison of SSS and Q enzyme activities through the late filling stage

速率呈显著正相关(Li 等,2001)。通过对小麦(Kumar & Singh, 1980)和玉米(Doehlert & Kuo, 1990;Doehlert & Lambert,1991)的研究认为,ADPG 焦磷酸化酶活性与淀粉积累速率显著相关,而和直链或支链淀粉含量无关。根据本实验的研究结果,在野生稻中也未发现 ADPG 焦磷酸化酶活性与直链淀粉含量的关系。依据 SSS 的功能,SSS 的活性峰值出现的时期应较 ADPG 活性晚或同时,然而很多研究报道水稻中 SSS 的活性峰值大多出现在开花后第 5 天左右(唐湘如等,2002),此后逐渐下降。在李天等(2005)的研究中,材料 IR72 的 SSS 活性峰值也是出现在开花后 5 d 左右,明显早于 ADPG。在 Ahmadi(2001)等的研究中 SSS 的活性峰值出现的时间要早于 GBSS,钟进连(2003)等报道也是 SSS 也早于 ADPG。在小麦中 SSS 的活性也有在开花早期达到峰值,此后一直下降(Xie 等,

表 2 SSS 和 Q 酶活性之间的相关系数

Table 2 The correlation coefficients between SSS and Q activity

		可溶性淀粉合成酶 SSS						
		普通野生稻	药用野生稻	疣粒野生稻	后 736/KM670	展 6	滇超 6	合系 41
		<i>O. rufipogon</i>	<i>O. officinalis</i>	<i>O. granulata</i>	Hou736/KM670	Zhan 6	Dianchao 6	Hexi 41
Q 酶	灌浆早期 Early stage	-0.6214	-0.85632	-0.96301	-0.566639	-0.342446	-0.384244	-0.36131
Q enzyme	灌浆中期 Middle stage	-0.12306	-0.85242	-0.89201	-0.871005	-0.857387	-0.87491	-0.86182
	灌浆晚期 Late stage	-0.9332	-0.86846	-0.967425	-0.879356	-0.63827	0.537323	0.49337

2003)。也有研究发现 SSS 活性峰值出现在开花后 15 d 左右,但早于 ADPG 焦磷酸化酶,也早于 GBSS (Cheng 等,2005),王芳等的研究中也显示 SSS 的活性早于 ADPG 焦磷酸化酶和 GBSS(王芳等,2004)。在本实验中,除了合系 41 之外,SSS 酶活性的峰值都出现在灌浆早期,此后活性开始下降。在 3 种野生稻中,可溶性淀粉合成酶活性整体要低于

栽培稻,而在疣粒野生稻和药用野生稻表现尤为明显。在灌浆的中期和晚期,3 种野生稻的可溶性淀粉合成酶明显的低于 4 种栽培稻。

GBSS 与 SSS 作用于相同的底物 ADPG,但 GBSS 的活性峰值出现在灌浆中期,时间基本上与 ADPG 焦磷酸化酶相同(王芳等,2004)。这种现象说明 SSS 可能还具有其它作用,如在淀粉合成的早

期催化其它步骤。在栽培稻(王月福等,2003)、玉米(Sprague 等,1943; Tsai, 1965)、马铃薯(Van 等,1987)中的研究都表明 GBSS 活性与直链淀粉含量成正相关。本实验对 GBSS 的活性测定表明,野生稻直链淀粉含量低于栽培稻,同样 GBSS 的活性也明显低于栽培稻,而且在 3 种野生稻之间也表现出同直链淀粉含量的相关性,GBSS 同样是野生稻中控制籽粒中直链淀粉含量的最重要的酶,这就为我们研究和利用野生稻中直链淀粉的遗传机制提供了生理学上的支持。

本实验中 Q 酶在野生稻和栽培稻中呈相同的变化趋势,不同材料不同时期 Q 酶的变化没有明显的规律。Q 酶与 SSS 相同,和直链淀粉或支链淀粉的关系不是很明显,但是将处于同一灌浆期的不同材料的 SSS 和 Q 酶放在一起进行比较可以发现在同一时期 SSS 的活性与 Q 酶存在相反变化趋势(图 5~7)。并且在疣粒野生稻的灌浆早期和中期,其 SSS 和 Q 酶呈极显著负相关,而药用野生稻也达到了显著负相关(表 2)。将程方民等(2001)、钟进连等(2003)、王芳(2004)等的研究结果进行比较,也有大致的变化趋势。在 Cheng(2005)的报道中,高温下 SSS 和 Q 酶的变化规律与本实验结果非常吻合。根据这几种现象猜测 SSS 可能具有另外的功能,在淀粉合成的前期起到重要的作用。而且这暗示着 Q 酶在支链淀粉的合成过程中可能存在某种反馈调节的机制,共同影响支链淀粉的含量。这值得我们进一步研究。

基于上面的研究,得出以下结论:(1)在 3 种野生稻中 4 种淀粉合成酶的变化趋势与栽培稻相似,但活性有较大的差别。(2)3 种野生稻中 GBSS 的活性明显低于栽培稻,GBSS 的活性与直链淀粉含量呈正相关。(3)在 3 种野生稻同一灌浆期,同种材料中 SSS 和 Q 酶的变化呈相反趋势,推测这两种酶之间可能存在某种反馈调节机制。

参考文献:

- 傅立国. 1992. 中国植物红皮书[M]. 北京:北京科学技术出版社:314—316
- Ahmadi A, Baker DA. 2001. The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat[J]. *Plant Growth Regulation*, **35**:81—91
- Cathie M, Smith AM. 1995. Starch biosynthesis[J]. *The Plant Cell*, **7**:971—985
- Chang TT. 1985. Crop history and genetic consonatin; rice-case study[J]. *Louis State J Res*, **59**:425—455
- Cheng FM, Zhong LJ, Zhao NC, et al. 2005. Temperature induced changes in the starch components and biosynthetic enzymes of two rice varieties[J]. *Plant Growth Regulation*, **46**:87—95
- Cheng FM(程方民), Jiang DA(蒋德安), Wu P(吴平), et al. 2001. The dynamic change of starch synthesis enzymes during the grain filling stage and effects of temperature upon it(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]. *Acta Agron Sin(作物学报)*, **27**(2):201—206
- Doehlert DC. 1993. Sink strength; dynamic with source strength [J]. *Plant Cell Environ*, **16**:1 027—1 028
- Doehlert DC, Kuo TM. 1990. Sugar metabolism in developing kernels of starch-deficient endosperm mutants of maize[J]. *Plant Physiol*, **92**:990—994
- Doehlert DC, Lambert RJ. 1991. Metabolic characteristics associated with starch, protein, and oil deposition in developing maize kernels[J]. *Crop Sci*, **31**:151—157
- Fan SG(范树国), Zhang ZJ(张再君), Liu L(刘林), et al. 2000. The species, geographical distribution of wild rice and their characteristics in China(中国野生稻的种类、地理分布以及特征特性综述)[J]. *J Wuhan Bot Res(武汉植物学研究)*, **18**(5):417—425
- Li T(李天), Ryu OSL(大杉立), Tohru YG(山岸徹), et al. 2005. Effects of weak light on rice starch accumulation and starch synthesis enzyme activities at grain filling stage(灌浆结实期弱光对水稻籽粒淀粉积累及相关酶活性的影响)[J]. *Chin J Rice Sci(中国水稻科学)*, **19**(6):545—550
- Li TG(李大贵), Shen B(沈波), Chen N(陈能), et al. 1997. Effect of Q-enzyme on the chalkiness formation of rice grain(Q 酶在水稻籽粒垩白形成中作用的研究)[J]. *Acta Agron Sin(作物学报)*. **23**(3):338—344
- Han XZ, Hamaker BR. 2001. Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown[J]. *Crop Sci*, **34**:279—284
- Kumar R, Singh R. 1980. The relationship of starch metabolism to grain size in wheat[J]. *Phyto Chem*, **19**:2 299—2 302
- Li YG. 2001. Studies on the changes of the synthesis of sucrose in the flag leaf and starch in the grain and relates enzymes of high-yielding wheat[J]. *Acta Agron Sin*, **27**(2):157—164
- Lim SJ, Kim DU, Sohn JK, et al. 1995. Variation of amylogram properties and its relationship with other eating quality characteristics in rice[J]. *Korean J Breeding*, **27**(3):268—275
- Nakamura Y, Yuki K, Park S, et al. 1989. Carbohydrate metabolism in the developing endosperm of rice grains[J]. *Plant Cell Physiol*, **30**(6):833—839
- Nakamura Y, Yuki K. 1992. Changes in enzyme activities associated with carbohydrate metabolism during the development of rice endosperm[J]. *Plant Sci*, **82**:15—20
- Nakamura Y, Umamoto T, Takahata Y, et al. 1992. Characteristics and roles of key enzymes associated with starch biosynthesis in rice endosperm[J]. *Gamma Field Symposia*, **31**:25—44
- Sprague GF, Bringhall B, Hixon RM. 1943. Some effects of the waxy gene in corn on properties of the endosperm starch[J]. *J Am Soc Agron*, **35**:8—17
- Tan Y, Corke H. 2002. Factor analysis of physicochemical properties of 63 rice varieties[J]. *Food Agric*, **82**:745—752
- Tang XR(唐湘如), Tan ZW(谭中文), Li ZL(李之林), et al. (下转第 799 页 Continue on page 799)

胞生长受阻,生物量出现缓慢下降,生物碱的合成也随之降低。比较岩黄连细胞悬浮培养过程中,大量元素的相对消耗速率,发现磷>氮>碳,在大量元素中无机磷消耗最快,其中氮和磷在细胞进入快速生长中期几乎耗尽,提示氮和磷可能是影响岩黄连细胞培养的主要营养因素。张美萍等(2003)在西洋参悬浮细胞培养研究中也发现磷酸根消耗最快,氮源消耗次之。郭志刚等(2002)在研究紫杉细胞悬浮培养过程中,得到了相似的结果,认为氮、磷和钾是影响紫杉细胞培养的主要营养因素。

参考文献:

- Akita T, Hina Y, Nishi T. 2000. Production of betacyanins by a cell suspension culture of table beet (*Beta vulgaris*) [J]. *Biosci Biotech Biochem*, **64**(9):1 807—1 812
- Ashihara H, Tokoro H. 1985. Metabolic rate of inorganic phosphate absorbed by suspension cultured cells of *Catharanthus roseus* [J]. *J Plant Physiol*, **118**(3):227—237
- Cheng H, Yu LJ, Hu QY, et al. 2006. Establishment of callus and cell suspension cultures of *Corydalis saxicola* Bunting, a rare medicinal plant [J]. *Z Naturforsch*, **61**(3—4):251—256
- Guo ZG(郭志刚), Du J(都军), Liu RZ(刘瑞芝). 2002. Kinetic investigation of *Taxus* cell growth and nutrient consumption(紫杉细胞生长过程与营养物质消耗的动态研究) [J]. *J Tsinghua Univ (Sci Tech)* (清华大学学报·自然科学版), **42**(5):599—602
- He JX(何金祥). 2003. Separation and identification of the pathogen causing the basilar stem of *Corydalis saxicola* Bunting and its prevention [J]. *Guihaia* (广西植物), **23**(5):473—475
- Hou XW(侯学文), Zheng SP(郑穗平), Guo Y(郭勇). 2001. The culturing process and kinetic model construction of *Hibiscus sabdariffa* suspension culture(悬浮培养玫瑰茄细胞的生长行为及动力学方程的建立) [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学杂志), **19**(4):317—322
- Hou XW(侯学文), Guo Y(郭勇). 1999. The effect of various carbon sources on the assimilation of nutrients in Roselle suspension culture(不同碳源对悬浮培养玫瑰茄细胞主要基质消耗的影响) [J]. *Guihaia* (广西植物), **19**(1):73—77
- Jiang ST(姜绍通), Wei M(魏明), Luo JP(罗建平). 2006. Effect of phosphate on growth and polysaccharide production by suspension cultures of protocorm-like bodies of *Dendrobium huoshanense* (磷对霍山石斛类原球茎悬浮培养细胞生长和多糖合成的影响) [J]. *Chin J Biotech* (生物工程学报), **22**(4):613—618
- Jiang SY(蒋水元), Hu XH(胡兴华), Zhao RF(赵瑞峰). 2002. Study on the introduction and cultivation of *Corydalis saxicola* Bunting(岩黄连引种栽培研究) [J]. *Guihaia* (广西植物), **22**(5):469—473
- Ke MM(柯珉珉), Zhang XD(张宪德), Wu LZ(吴练中). 1982. Studies on the active principles of *Corydalis saxicola* (岩黄连有效成分的研究) [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), **24**(3):289—292
- Ramachandra Rao S, Ravishankar GA. 2002. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites [J]. *Biotech Adv*, **20**(2):101—153
- Wen HQ(文和群), Xu ZR(许兆然), Villa LJ, et al. 1993a. A list of threatened limestone plants in south China(中国南部石灰岩稀有濒危植物名录) [J]. *Guihaia* (广西植物), **13**(2):110—127
- Wen HQ(文和群), Xu ZR(许兆然), Villa LJ, et al. 1993b. A preliminary study on the threatened limestone plants in South China(中国南部石灰岩濒危植物的初步研究) [J]. *Guihaia* (广西植物), **13**(1):41—47
- Yang S, Ubillas R, McAlpine J, et al. 2001. Three new phenolic compounds from a manipulated plant cell culture, *Mirabilis jalapa* [J]. *J Nat Prod*, **64**(3):313—317
- Zhang MP(张美萍), Wang Y(王义), Sun CY(孙春玉), et al. 2003. Study on the consumption of sucrose and inorganic elements in the basal media of suspension culture of *Panax quinquefolium* Linn. callus(西洋参愈伤组织悬浮培养基中蔗糖和无机元素的消耗状况) [J]. *J Plant Res Environ* (植物资源与环境学报), **12**(3):60—61

(上接第 805 页 Continue from page 805)

2002. Effects of CPPU and PP333 on three starch synthase activity and grain quality of hybrid rice (CPPU 和 PP333 对杂交稻 3 个淀粉合成酶活性和米质的影响) [J]. *Hybrid Rice* (杂交水稻), **17**(3):44—46
- Tsai CY. 1965. Correlation of enzymatic activity with Wx dosage [J]. *Maize Genet Coop Newslett*, **39**:153—156
- Van D, Leij FR, Visser RGG, et al. 1987. Complementation of the amylase-free starch mutant of the potato (*Solanum tuberosum*) [J]. *Theor Appl Genet*, **75**:2—17
- Wang YF(王月福), Yu ZW(于振文), Li SX(李尚霞), et al. 2003. Activity of enzymes related to starch synthesis and their effect during the filling of winter wheat(小麦籽粒灌浆过程中有关淀粉合成酶的活性及其效应) [J]. *Acta Agron Sin* (作物学报), **29**(1):75—81
- Wang F(王芳), Wang XZ(王宪泽). 2004. Study on the dynamic

- changes of starch synthesis and their related enzymes in wheat (小麦籽粒淀粉合成动态及其相关酶活性的研究) [J]. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), **24**(2):57—60
- Wu B(武波), Wei D(韦东), Ou Q(欧倩). 2006. SCAR marker of Bph from rice(水稻抗褐飞虱基因 SCA 标记的获得) [J]. *Guihaia* (广西植物), **26**(6):617—620
- Xie ZJ, Jiang D, Cao WX, et al. 2003. Effects of post-anthesis soil water status on the activities of key regulatory enzymes of starch and protein accumulation in wheat grains [J]. *J Plant Physiol Mol Biol*, **29**(4):309—316
- Zhong LJ(钟连进), Cheng FM(程方民). 2003. Varietal differences in amylose accumulation and activities of major enzymes associated with starch synthesis during grain filling in rice(水稻籽粒灌浆过程直链淀粉的积累及其相关酶的品种类型间差异) [J]. *Acta Agron Sin* (作物学报), **29**(3):452—456