

文章编号: 1001-411X(2001)02-0046-03

普通玉米和超甜玉米苗期蔗糖合成酶与磷酸蔗糖合成酶的活力比较

高向阳, 徐凤彩, 赵亚华, 梅志弘

(华南农业大学生物技术学院, 广东 广州 510642)

摘要:以普通玉米和超甜玉米为试材, 比较两玉米品种在苗期的蔗糖合成酶与磷酸蔗糖合成酶的酶活力变化. 结果表明, 从胚芽期到五叶期, 超甜玉米和普通玉米的蔗糖合成酶、磷酸蔗糖合成酶的活力逐渐升高, 并且超甜玉米中这两种酶的酶活力都高于普通玉米.

关键词:普通玉米; 超甜玉米; 蔗糖合成酶; 磷酸蔗糖合成酶

中图分类号: Q946

文献标识码: A

蔗糖是重要的光合产物, 为植物体内运输的主要物质, 又是碳水化合物积累和贮藏的主要形式, 特别对于甜玉米, 在植物糖代谢中具有特殊的位置. 甜玉米独特的风味主要取决于可溶性糖含量, 乳熟期甜玉米籽粒中的可溶性糖主要有蔗糖、葡萄糖、果糖等, 是普通玉米的 5~6 倍. 其中以蔗糖含量为最高, 占总糖 62%~77%^[1]. 植物细胞中蔗糖合成与降解的平衡调节依赖于蔗糖-6-P 合成酶(EC 2.4.1.14, SPS)、蔗糖-6-P 酯酶(EC 3.1.3.00, Suc-Pase)、蔗糖合成酶(EC 2.4.2.13, SS)及蔗糖酶(EC 3.2.1.26)的协同作用^[2]. 蔗糖酶将蔗糖水解为果糖与葡萄糖, SPS 的产物 Suc-6-P 及时被 Suc-6-Pase 脱 Pi, 表观平衡常数为 52~3 250, 反应有利于蔗糖的合成, 主要分布在合成蔗糖的组织中. SS 催化可逆反应, 表观平衡常数为 1.3~8.0, 主要分布在消耗蔗糖的组织中. 一般认为, 体内蔗糖的合成主要依靠 SPS/Suc-6-Pase 系统, 而 SS 主要是将输入至籽实中的蔗糖降解为 UDPG 以提供葡萄糖供体进而合成淀粉等多糖^[3]. 其中 SPS 的活力大小直接影响光合产物在淀粉与蔗糖之间的分配, SPS 活力越高, 蔗糖积累得越多^[4]. 因此, 研究玉米蔗糖合成与转化的机理是非常重要的, 而 SS 和 SPS 在其中起着重要的作用, 为此笔者研究普通玉米、超甜玉米在幼苗期的 SS 和 SPS 酶活力变化.

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

材料 1: 普通玉米和超甜玉米种子分别用 1×

10⁻³ g/L 的高锰酸钾处理 30 s, 取出用湿纱布覆盖, 24℃温室催芽 6 d, 当胚芽长出 2 cm 左右即分别取胚芽和根.

材料 2: 种子处理同上, 土壤播种, 成苗后, 分别取三叶期、五叶期(即播种后 12、30 d 左右)幼苗的倒数第二片功能叶和根.

各处理重复 3 次以上.

1.2 粗酶的制备

分别称取 2 g 新鲜材料洗净、吸干、剪碎, 用 100 mmol/L Tris-HCl (pH 7.0) 缓冲液(内含 10 mmol/L MgCl₂、2 mmol/L EDTA、 $\varphi=2\%$ 乙二醇、20 mmol/L 巯基乙醇)10 mL 冰浴上快速研磨匀浆, 尼龙布过滤, 滤液于 10 000 r/min 离心 5 min, 取 1 mL 上清液过 Sephadex G-25 (2 cm×10 cm)柱, 以上述提取液进行洗脱, 流速为 2.5 mL/min, 分别收集洗脱液进行 SS 与 SPS 的活力测定.

1.3 酶活力测定

(1) SS 活力测定: 取 0.15 mL 的反应混合液, 内含 100 mmol/L Tris-HCl pH 8.0、10 mmol/L 的果糖、3 mmol/L 尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG), 另加入 0.2 mL 酶液.

(2) SPS 活力测定: 取 0.15 mL 的反应混合液, 内含 50 mmol/L Tris-HCl pH 7.2、10 mmol/L 的 MgCl₂、10 mmol/L 6-磷酸果糖(F6P)、3 mmol/L UDPG, 另加入 0.2 mL 酶液.

将上述反应液分别在 30℃水浴中反应 10 min, 立即加入 0.1 mL 2 mol/L NaOH 终止反应. 在沸水浴保温 10 min, 流水冷却, 再加 3.5 mL $\varphi=30\%$ 的 HCl

和 1 mL 的用 $\varphi=95\%$ 乙醇配制的质量浓度为 1 g/L 的间苯二酚, 摇匀, 于 80 ℃水浴反应 10 min, 流水冷却, 在 480 nm 波长处比色^[3].

酶活力单位定义为: 在上述条件下, 每克样品干质量, 在 10 min 内催化生成 1 μg 蔗糖的酶量为 1 个酶活力单位(U).

1.4 蛋白质含量测定

按 Bradford 方法^[4], 并以牛血清白蛋白为标准蛋白质.

1.5 样品干、鲜质量的测定

样品干质量按常规恒质量法, 鲜质量按称量法.

2 结果与分析

2.1 不同苗期普通玉米和超甜玉米的根和叶的蛋白质含量

试验表明, 玉米根在不同苗期蛋白质含量变化不大, 而叶的蛋白质含量随着幼苗的生长逐渐增大, 并且超甜玉米叶的蛋白含量普遍高于普通玉米(表 1).

表 1 不同苗期根叶干质量的蛋白质含量[w/(mg·g⁻¹)]
Tab. 1 The protein contents of roots and leaves in different seedling stages[w/(mg·g⁻¹)]

材料	胚芽期	三叶期	五叶期
material	plumula	three-leaf stage	five-leaf stage
普通玉米根	9.40	10.33	10.31
ordinary corn root			
普通玉米叶	32.66	60.69	82.65
ordinary corn leaf			
超甜玉米根	13.22	12.18	11.65
super-sweet com root			
超甜玉米叶	33.40	83.82	96.32
super-sweet com leaf			

2.2 不同苗期 SS 的活力变化

不同苗期 SS 的活力变化如图 1.

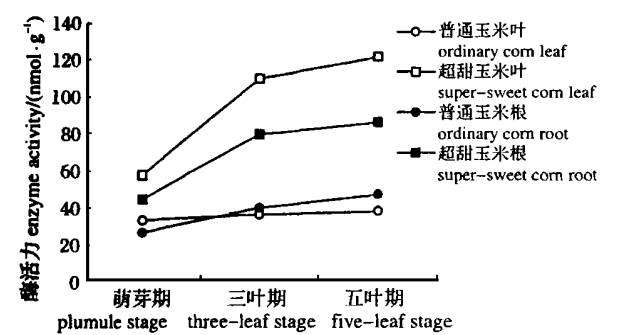


图 1 不同苗期玉米根叶中蔗糖合成酶的活力变化
Fig. 1 The changes of activity of SS of corn in different seedling stages

从图 1 中看出, 普通玉米和超甜玉米的叶和根在幼苗期 SS 的活力逐渐升高, 超甜玉米的 SS 活力普遍高于普通玉米, 以五叶期的超甜玉米为例, 叶的 SS 活力是普通玉米的 3 倍; 根的 SS 活力是普通玉米的 2 倍左右.

2.3 不同苗期 SPS 的活力变化

不同苗期 SPS 的活力变化如图 2.

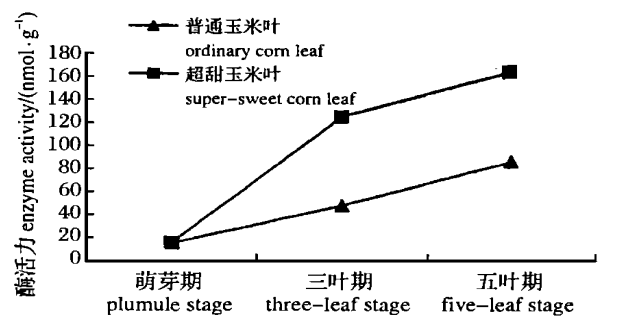


图 2 不同苗期玉米磷酸蔗糖合成酶的活力变化
Fig. 2 The changes of activity of SPS of corn in different seedling stages

普通玉米和超甜玉米的叶在幼苗期 SPS 的活力逐渐升高, 超甜玉米叶的 SPS 活力在三叶期、五叶期高于普通玉米, 分别是 2.6 倍、1.9 倍.

2.4 不同苗期普通玉米、超甜玉米叶片中 SS 与 SPS 活力比较

不同苗期普通玉米、超甜玉米叶片中 SS、SPS 活力比较(图 1、图 2)可看出, 在萌芽期时, SS 活力在两种玉米中均较高, 说明此期主要以分解体内蔗糖供生长需要, 以后的生长期活力增加不多; 而 SPS 则明显不同, 三叶期与萌芽期相比, 在普通玉米 SPS 活力增加了约 2 倍, 而超甜玉米的增加约 7 倍, 比普通玉米的增加更多.

3 讨论

已知在植物体内, SS 主要是催化蔗糖的降解, 以提供 UDPG 和果糖, 满足机体多糖合成或呼吸作用的需要. SPS 主要催化蔗糖的生物合成^[7]. 本试验结果也表明, 在萌芽时, SS 活性在两种玉米均较高, 以后的生长期活力增加不多, 说明了这种作用; SPS 显著增加, 特别是超甜玉米增加更多, 说明 SPS 的作用与上述报道一致, 并说明超甜玉米在此生长时期蔗糖生物合成较普通玉米强. 从玉米生长发育的规律来看, 五叶期正是植物从完全营养生长转入营养生长与生殖生长并进时期, 雄穗生长锥开始分化, 是决定叶片总数的时期, 生长旺盛, 从胚芽期到五叶期, 无论普通玉米还是超甜玉米的 SS、SPS 的活力都是随生长发育逐渐升高的趋势, 蛋白质含量也随之升

高,其中叶片尤其明显,SS 是起分解蔗糖的作用,在五叶期酶的活力最高是有利于此时期形成大量生长过程所需要的基础物质,满足自身生长需要;在萌芽期普通玉米和超甜玉米的 SPS 活力相差不大,且活力较低,而在三叶期、五叶期酶活力逐渐增高,而且二者差异加大,这与玉米开始进行光合作用,利用外界的营养物质来合成自身生长的物质,而胚乳中的物质则逐渐被消耗完有关。

超甜玉米无论是 SS 还是 SPS,其酶活力都明显高于普通玉米。可推知超甜玉米幼苗中蔗糖代谢的能力大于普通玉米,已有报道,超甜玉米蔗糖的含量均比普通玉米的高^[8],这可能与 SS 和 SPS 的酶活力高有很重要的关系。同时此时期的氨基酸含量也较普通玉米的高^[8],这与笔者测得的超甜玉米幼苗期蛋白质含量比普通玉米高的结果一致。

致谢:本试验所用玉米种子由华南农业大学农学系张德华副教授、吴汉副教授提供,在此表示感谢!

参考文献:

[1] 崔彦宏,周 海,李伯航. 甜玉米籽粒的营养品质及影响因素[J]. 河北农业大学学报,1996,19(4):99—104.
[2] 夏叔芳,徐 健,苏丽英,等. 水稻叶片的蔗糖合成酶[J]. 植物生理学报,1989,15(3):239—243.
[3] WHITTINGHAM C P, KEYS A J, BIRD I F. The enzymology of sucrose synthesis in leaves[A]. Gibbs M, Latzko E. Encyclopedia of plant physiology: New series Vol 6 [C]. Berlin: Springer-Verlag, 1979. 313—326.
[4] HUBER S C. Role of sucrose-phosphate synthetase in partition of carbon in leaves[J]. Plant Physiol, 1983, 71: 818—821.
[5] 薛应龙,夏镇澳. 植物生理学实验手册[M]. 上海:上海科技出版社,1985. 146—150.
[6] 李 琳,徐 萌. 考马斯亮蓝测定蛋白质含量方法的改进[J]. 植物生理学通讯,1980(6):52—55.
[7] 苏丽英,吴 勇,於新建,等. 水稻叶片蔗糖磷酸合成酶的一些特性[J]. 植物生理学报,1989,15(2):117—123.
[8] 刘雅楠,曾孟潜,叶松青. 甜玉米新种质生化成分的分析[J]. 华北农学报,1997,12(2):1—6.

Compare with the Activities of Sucrose Synthetase and Sucrose Phosphate Synthetase in Ordinary Corn and Super-Sweet Corn

GAO Xiang-yang, XU Feng-cai, ZHAO Ya-hua, MEI Zhi-hong

(College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: By using ordinary corn and super-sweet corn as test sample, the activities of sucrose synthetase and sucrose phosphate synthetase were studied at plumule stage, three-leaf stage and five-leaf stage. The result indicated that the activities of sucrose synthetase and sucrose phosphate synthetase increased gradually with the process of growing. In addition, the activities of two enzymes in super-sweet corn were higher than those in ordinary corn.

Key words: ordinary corn; super-sweet corn; sucrose synthetase; sucrose phosphate synthetase

【责任编辑 柴 焰】