

不同基因型甘蔗组织中 ATP 酶活性的研究^{*}

李杨瑞

(广西农学院农学系, 南宁, 530005)

提 要

不同基因型甘蔗叶片中的 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性与早熟高糖特性有密切的联系。原种中的春尼酶活性最高, 其次是黑车里本, 蔗糖分很低的野生种晋江割手密酶活性最低。五个杂交品种的这两种 ATP 酶活性介于春尼和晋江割手密之间; 其中, 早熟品种的酶活性明显较高, 尤以最早熟的福引 79/8 最高。

在福引 79/8 和 POJ 2878 幼苗的幼茎、叶片、叶鞘和苗根中都有明显的 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性, 而基因型之间的差异以叶片中较大。在叶片中, 福引 79/8 的 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性分别比 POJ 2878 的高 4.7 和 1.7 倍。

关键词 甘蔗, 基因型, ATP 酶

ATP 酶是植物能量代谢的关键酶。我们曾报道过甘蔗叶片不同细胞器中 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性的表现^[1]。本文进一步报道不同基因型甘蔗组织中这两种 ATP 酶活性的差异, 供从事这方面工作的研究者以及甘蔗选育种工作者参考。

材 料 与 方 法

选用 3 个甘蔗 (*Saccharum* spp.) 早熟杂交品种闽糖 70/611、NCo310 和福引 79/8, 2 个中晚熟品种 POJ 2878 和台糖 134, 3 个栽培原种黑车里本 (*Black Cheribon*, *S. officinarum* L.), 春尼 (*Chunnee*, *S. sinense* Grassal) 和松溪竹蔗 (*S. sinense* Roxb.), 以及 1 个野生种晋江割手密 (*S. spontaneum* L.) 等 9 个基因型, 作为本研究的参试材料。不同基因型的比较试验于 1985/86 和 1986/87 年度重复进行, 春植, 均采用育苗移栽, 当甘蔗幼苗长到 3 片真叶左右时移植到大田。试验采用随机区组设计, 三次重复, 1985/86 年度为单行区, 1986/87 年度为二行区, 行距 1.1 米, 行长 3.0 米, 每行栽 16 株。田间管理与一般生产田相同。

分别于分蘖末期 (6 月 23 日)、伸长盛期 (8 月 12 日)、伸长后期 (10 月 1 日)、工艺成熟前期 (11 月 19 日) 和工艺成熟期 (次年 1 月 4 日) 取样分析。在每小区选取 3 株 (晋江割手密叶片太小, 取 12 株) 有代表性的蔗株, 剪取 +1 叶 (指最高可见肥厚带叶), 分别用自来水和去离子水洗净, 再用干净纱布擦去样品上的水珠, 截取距肥厚带 10—35cm 的区段, 去中脉, 按基因型混合, 作为提取、测定酶活性的样品。

^{*} 国家自然科学基金资助项目

本研究的工作承福建农学院周可涌教授指导, 特此致谢。

另外,于1986年5月5日选取未移栽的早熟高糖丰产品种福引79/8和中晚熟品种POJ2878的幼苗各10株,取+1叶叶片5—15cm区段和叶鞘(+1叶)、幼茎以及有活力的白色苗根,分别用去离子水洗净,作为样品。

称取剪碎、混匀后的不同样品各1g,在冰浴中用冰冷的Tris-HCl缓冲液(pH7.5,内含0.05mol/L Tris, 2 mmol/L EDTA, 2.5 mmol/L DTT)10ml和石英砂1g研磨成匀浆,置于冷冻离心机中在0—4℃下10000r/min离心15分钟(1985/86年度用5500r/min离心20分钟),取上清液,即酶液,按前文报道的方法^[1]测定Mg²⁺-ATP酶和Ca²⁺-ATP酶活性,按Bradford的方法^[3]测定酶液中的蛋白质含量。

结果与讨论

一、不同基因型甘蔗叶片中的Mg²⁺-ATP酶和Ca²⁺-ATP酶活性比较

9个甘蔗基因型叶片中的Mg²⁺-ATP酶和Ca²⁺-ATP酶活性测定结果分别以同一年度中5次不同生长期的平均值列于表1和表2中。通过比较可见,在不同甘蔗基因型的叶片中Mg²⁺-ATP酶和Ca²⁺-ATP酶活性有类似表现。以栽培原种中的春尼最高,其次是黑车里本,再次是松溪竹蔗,以野生种晋江割手密为最低,正好与这几个基因型的蔗茎蔗糖分表现一致;据1986年12月26日的甘蔗品质分析结果,这4个基因型的蔗茎蔗糖分分别

表1 9个基因型甘蔗叶片中的Mg²⁺-ATP酶活性
Table 1 Activity of Mg²⁺-ATPase in the leaves of 9 genotypes of sugarcane

基因型 Genotypes	酶活性 Activity ($\mu\text{g Pi/g FW. min}$)		酶比活性 Specific activity ($\mu\text{g Pi/mg Pro.min}$)	
	1985/86	1986/87	1985/86	1986/87
闽糖 70/611	25.4±13.1	12.0±7.1	5.67±3.03	2.25±1.07
Mintang 70/611				
NCo 310	30.3±16.4	15.1±7.4	4.93±2.59	2.38±1.09
福引 79/8	38.2±19.7	15.9±3.5	7.47±3.20	3.11±1.76
Fuying 79/8				
台糖 134	21.3±6.6	6.2±3.5	4.28±1.25	1.29±0.64
F 134				
POJ 2878	22.3±8.8	7.6±3.4	4.53±1.43	1.40±0.50
黑车里本	40.8±17.4	15.3±10.0	6.88±2.33	2.33±0.97
Black Cheribon				
春尼	51.4±21.1	25.6±5.6	7.89±3.72	4.16±1.60
Chunnee				
松溪竹蔗	22.3±10.4	10.7±11.7	3.73±1.87	2.29±3.00
Songxi Bamboo Cane				
晋江割手密	16.7±5.6	3.7±1.1	2.98±1.04	0.70±0.27
Jinjiang Spontaneous Cane				
年度相关 Correlation between years	0.949**		0.855**	

** : 在1%水平上显著

** : Significant at 1% level

为 14.41、14.01、11.29 和 2.56%。5 个杂交品种的这两种酶活性和比活性均介于春尼和晋江割手密之间; 其中 3 个早熟品种, 闽糖 70/611、NCo310 和福引 79/8, 明显高于两个中晚熟品种, 台糖 134 和 POJ 2878。且最早熟, 产量最高的福引 79/8^[4]、酶活性和比活性也最高。

表 2 9 个基因型甘蔗叶片中的 Ca^{2+} -ATP 酶活性
Table 2 Activity of Ca^{2+} -ATPase in the leaves of 9 genotypes of sugarcane

基因型 Genotypes	酶活性 Activity ($\mu\text{g Pi/g FW. min}$)		酶比活性 Specific activity ($\mu\text{g Pi/mg Pro.min}$)	
	1985/86	1986/87	1985/86	1986/87
	闽糖 70/611	24.1±15.7	10.9±6.1	5.06±2.24
Mintang 70/611				
NCo 310	27.8±20.8	12.5±4.0	4.42±2.99	2.04±0.53
福引 79/8				
Fuying 79/8	37.3±31.4	16.1±8.9	6.94±4.21	2.92±1.15
台糖 134				
F 134	22.1±14.0	7.8±4.2	4.19±1.71	1.68±0.95
POJ 2878	22.6±19.5	9.2±4.7	4.35±2.91	1.80±0.88
黑车里本				
Black Cheribon	35.9±27.9	16.5±8.7	6.02±4.17	2.79±1.36
春尼				
Chunnee	51.6±28.3	22.8±5.8	7.61±3.68	3.62±1.18
松溪竹蔗				
Songxi Bamboo Cane	28.1±19.2	6.9±4.7	4.41±2.60	1.30±0.88
晋江割手密				
Jinjiang Spontaneous Cane	13.1±4.6	1.2±0.7	2.27±0.53	0.22±0.12
年度相关 Correlation between years	0.951**		0.972**	

** : 在 1% 水平上显著

** : Significant at 1% level

在本研究中, 酶活性测定结果绝对值在不同年度有较大差异。可能与提取时离心的速度和时间不同有关。此外, 在第一年(1985/86 年度)试验中没有消除底物 ATP 中残存的无机磷的影响, 所以结果可能偏高, 并使不同基因型之间的差异相对减小。在 1986/87 年度试验中我们进一步改进实验方法, 设置对照, 完全消除底物中可能有的无机磷的影响。同时, 由于在不同的生长期中甘蔗叶片的 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性相差较大, 使年度平均值的标准离均差也较大。但两个年度测定结果所表现的趋势是一致的, 无论是 Mg^{2+} -ATP 酶还是 Ca^{2+} -ATP 酶, 酶活性还是比活性, 年度相关都呈高度显著正值, Mg^{2+} -ATP 酶活性和比活性年度相关的决定系数分别达到 0.901 和 0.731, Ca^{2+} -ATP 酶活性和比活性年度相关的决定系数分别达到 0.904 和 0.945。因此, 有理由认为, 本研究中所揭示的不同基因型甘蔗叶片中 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性的差异是确实存在的, 这两种 ATP 酶活性有可能成为甘蔗育种的生化指标。

表3 两个基因型甘蔗幼苗不同器官中的 Mg^{2+} -ATP酶活性
Table 3 Activity of Mg^{2+} -ATPase in different organs of young plants of 2 sugarcane genotypes

基因型 Genotypes	器官 Organs	酶活性 Activity			酶比活性 Specific activity		
		$(\mu\text{g Pi/g FW. min})$			$(\mu\text{g Pi/mg Pro.min})$		
福引 79/8 Fuying 79/8	叶片 Leaf blade	26.8	c*	C**	4.12	f	E
	叶鞘 Leaf sheath	8.2	e	E	9.72	c	CD
	幼茎 Young stalk	38.7	a	A	11.52	b	BC
	苗根 Root	6.3	f	EF	5.57	e	E
POJ 2878	叶片 Leaf blade	4.7	f	F	0.61	g	F
	叶鞘 Leaf sheath	14.6	d	D	25.65	a	A
	幼茎 Young stalk	29.8	b	B	8.03	d	D
	苗根 Root	15.2	d	D	12.69	b	B

*和**注有相同字母的数据在Duncan 5%或1%水平上差异不显著。

*and ** Figures followed by the same letter mean not significantly different at the Duncan 5% or 1% levels, respectively.

表4 两个基因型甘蔗幼苗不同器官中的 Ca^{2+} -ATP酶活性
Table 4 Activity of Ca^{2+} -ATPase in different organs of young plants of 2 sugarcane genotypes

基因型 Genotypes	器官 Organs	酶活性 Activity			酶比活性 Specific activity		
		$(\mu\text{g Pi/g FW. min})$			$(\mu\text{g Pi/mg Pro.min})$		
福引 79/8 Fuying 79/8	叶片 Leaf blade	28.9	b*	B**	4.44	e	E
	叶鞘 Leaf sheath	23.3	c	C	27.75	b	B
	幼茎 Young stalk	46.2	a	A	13.75	d	D
	苗根 Root	23.0	c	C	20.35	c	C
POJ 2878	叶片 Leaf blade	10.9	d	D	1.41	e	E
	叶鞘 Leaf sheath	28.8	b	B	50.58	a	A
	幼茎 Young stalk	46.5	a	A	12.53	d	D
	苗根 Root	26.7	b	BC	22.28	c	C

*和**注:有相同字母的数据在Duncan 5%和1%水平上差异不显著。

* and **: Figures followed by the same letter mean not significantly different at Duncan 5% or 1% levels, respectively.

二、两个基因型甘蔗幼苗不同器官中的 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性比较

由表 3 和表 4 可知, Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性均以幼茎中最高, 而比活性则以叶鞘中最高, 这是因为叶鞘中的蛋白质含量特别低的缘故^[2]。从两个基因型(福引 79/8 和 POJ2878)的差异看, 则以叶片中的差异最大; 福引 79/8 的 Mg^{2+} -ATP 酶活性比 POJ2878 高 4.7 倍, 比活性高 5.8 倍; Ca^{2+} -ATP 酶活性和比活性则分别相差 1.7 和 2.1 倍。而且, 从生化育种的角度来看, 用叶片来进行分析, 取样后蔗株仍能正常生长, 特别有利于进行早期分析。如果能利用生化指标在生长前期进行选择, 在一年内就可选择多次, 将可大大缩短甘蔗育种的时间, 提高育种效率, 节约大量土地和人力物力。

参 考 文 献

- [1] 李杨瑞, 1987, 甘蔗叶片细胞器的 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性, 植物生理学通讯, (6), 20—22.
- [2] 李杨瑞, 1989, 不同基因型甘蔗叶片中水溶性蛋白质含量和含水量的研究, 甘蔗糖业, (1), 20—24.
- [3] Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248—254.
- [4] Li, Y.R. and K.Y. Zhou, 1991. Prediction of sugar cane yield and quality from biochemical parameters in leaves of young shoots. *Sugar Cane*, (1), 10—14.

Studies on the Activities of ATP_{ase} in Tissues of Different Sugarcane Genotypes

Li Yangrui

(Department of Agronomy, Guangxi Agricultural College, Nanning, Guangxi 530005)

Abstract

The activities of Mg^{2+} -ATPase and Ca^{2+} -ATPase in leaves of 9 sugarcane genotypes were closely related to early maturity and high sugar content. It was found that Chunnee, an original cultivar (*Saccharum sinense*), showed the highest enzyme activities, followed by Black Cheribon (*S. officinarum*). Jinjiang Spontaneous Cane, a wild species (*S. spontaneum*), had the lowest enzyme activity and the lowest sugar content too. The enzyme activities of 5 hybrid cultivars ranged between those of Chunnee and Jinjiang Spontaneous Cane, and those of the early cultivars were obviously higher than those of the middle-late ones. Fuying 79/8, a cultivar with the highest enzyme activities, was also the earliest.

There were detectable activities of Mg^{2+} -ATPase and Ca^{2+} -ATPase in the stalk, leaf blade, leaf sheath and root of young plants of Fuying 79/8 and POJ2878. But those in leaves showed the biggest difference between the two genotypes. The activities of Mg^{2+} -ATPase and Ca^{2+} -ATPase in the leaf of Fuying 79/8 were 4.7 and 1.7 times higher than those of POJ2878, respectively.

Key words Sugarcane, genotype, ATPase