

糯玉米胚乳淀粉粒粒度分布形成的酶学机理

伊祖涛¹, 张海艳^{1,2,*}

¹青岛农业大学农学与植物保护学院/山东省旱作农业技术重点实验室, 山东青岛266109; ²山东省小麦玉米周年高产高效生产协同创新中心, 山东泰安271018

摘要: 以7个糯玉米品种为材料, 测定其籽粒发育过程中淀粉粒粒度分布及淀粉合成相关酶活性的变化, 分析两者之间的关系。结果表明, 随着籽粒发育, 糯玉米淀粉粒平均粒径逐渐增大, 可溶性淀粉合成酶(SSS)和淀粉分支酶(SBE)活性呈单峰曲线变化。籽粒发育前期, 小淀粉粒($\leq 7.4 \mu\text{m}$)所占体积较大; 随着籽粒发育, 小淀粉粒所占体积减少, 大淀粉粒($> 7.4 \mu\text{m}$)所占体积增多; 籽粒发育后期, 大淀粉粒所占体积较大。相关分析表明, SSS和SBE活性与大淀粉粒体积增大速率和平均粒径增大速率均呈显著或极显著正相关。因此, SSS和SBE是影响糯玉米胚乳淀粉粒粒度分布形成的主要酶, SSS和SBE活性越高, 淀粉粒平均粒径越大, 大淀粉粒所占体积越多。

关键词: 糯玉米; 淀粉粒粒径; 粒度分布; SSS; SBE

Enzyme Mechanism of Starch Granule Size Distribution Formation in Waxy Corn Endosperm

YI Zu-Tao¹, ZHANG Hai-Yan^{1,2,*}

¹College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University/Shandong Key Laboratory of Dry Farming Technique, Qingdao, Shandong 266109, China; ²Cooperative Innovation Center of Efficient Production with High Annual Yield of Wheat and Corn, Tai'an, Shandong 271018, China

Abstract: In this study, seven varieties of waxy corn (*Zea mays* var. *sinensis*) were used to determine starch granule size distribution and starch synthetic enzyme activity and analyze their correlation. The results indicated that with kernel development, mean diameter of starch granule increased, and soluble starch synthase (SSS) and starch-branching enzyme (SBE) activities showed single peak curve. During early period of kernel development, the volume percentage of small starch granule ($\leq 7.4 \mu\text{m}$) was large. Then, the volume percentages of small and large starch granules decreased and increased, respectively. During late period, the volume percentage of large starch granule ($> 7.4 \mu\text{m}$) was large. Correlation analysis indicated that SSS and SBE activities were positively (highly) significantly correlated with the increasing percentages of large starch granule volume and mean diameter. Therefore, SSS and SBE are the key enzymes to affect starch granule size distribution formation of waxy corn. The higher SSS and SBE activities are, the larger mean diameter and volume percentage of large starch granule are.

Key words: waxy corn; starch granule diameter; size distribution; SSS; SBE

淀粉是玉米籽粒胚乳的主要成分, 以大小不同的淀粉粒形式存在。淀粉粒粒度分布对淀粉的理化特性有显著影响(Wei等2010; 银永安等2010; 陆大雷等2010), 进而决定淀粉的食用和加工品质(Singh等2009), 目前已成为淀粉品质评价的一个重要因素。

籽粒淀粉的生物合成是由腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPase)、可溶性淀粉合成酶(soluble starch synthase, SSS)、束缚态淀粉合成酶(granule-bound starch synthase, GBSS)、淀粉分支酶(starch-branching

enzyme, SBE)和淀粉去分支酶(starch-debranching enzyme, DBE)等多种酶协同作用, 通过复杂的途径完成的(Tetlow 2011)。Zhang等(2010)研究认为, 小麦强势粒和弱势粒灌浆期间的淀粉粒粒度分布与淀粉合成酶活性变化及其基因表达有密切的关

收稿 2014-11-06 修定 2015-01-04

资助 国家自然科学基金(31101100)、山东省科技发展计划(2014GNC111001)、作物生物学国家重点实验室开放课题(2013KF05)和山东省旱地作物水分高效利用科研创新团队。

* 通讯作者(E-mail: hyzhang608@126.com; Tel: 0532-86080447)。

系。Peng等(2000)报道, SBE容易与小麦A型淀粉粒结合, 不易与B型淀粉粒结合。Tynnelä等(1995)发现在大麦 shx 位点突变体中, SSI活性降低, A型淀粉粒粒径变小, 粒径分布变为单峰曲线, 认为SSI能影响大麦淀粉粒的粒径大小。糯玉米胚乳淀粉几乎全由支链淀粉组成, 其食用消化率、粘滞性和膨胀力高, 适口性好, 这些优良特性赋予糯玉米宝贵的价值和广泛的用途(印志同等2006)。关于糯玉米籽粒发育过程中淀粉粒粒度分布的变化及淀粉粒粒度分布形成与淀粉合成酶活性之间的关系, 目前尚不清楚。本文以7个糯玉米品种为材料, 研究其籽粒发育过程中淀粉粒粒度分布及淀粉合成相关酶活性的变化, 分析两者之间的关系, 探讨淀粉合成酶对糯玉米淀粉粒粒度分布形成的影响, 对进一步调控糯玉米籽粒淀粉品质, 在作物体内直接生成结构适宜、能满足相应需求的天然淀粉提供理论依据。

材料与方法

1 植物材料

供试糯玉米(*Zea mays* L. var. *sinensis* Kulesh)品种为‘西星白糯1号’、‘京科糯2000’、‘西星黄糯6号’、‘西星赤糯1号’、‘紫糯208’、‘西星黑糯1号’、‘黑糯4号’, 2012年6月20日种植于青岛农业大学胶州试验田。小区 $9\text{ m}\times 5\text{ m}$, 行距 60 cm , 种植密度 $52\ 500\text{ 株}\cdot\text{hm}^{-2}$, 随机排列, 重复3次, 生长期统一管理。开花期选择生长发育一致的植株人工授粉。从授粉后5 d开始, 每隔5 d取10个果穗, 直至成熟(授粉后45 d), 发育期果穗于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 成熟期果穗自然风干保存。

2 淀粉的提取

参照Peng等(1999)的方法提取胚乳淀粉。

3 淀粉粒粒度分布的测定

用贝克曼库尔特公司的LS13320激光衍射粒度分析仪分析淀粉粒。取 50 mg 淀粉放入离心管, 加 10 mL 蒸馏水悬浮, 旋涡混匀后置 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 1 h , 每 10 min 振荡1次, 摇匀, 吸取 2 mL 转移至激光衍射粒度分析仪的分散盒中, 测量淀粉粒的体积分布曲线。

4 淀粉合成酶活性的测定

称取 1.0 g 冷冻籽粒, 冰浴研碎, 加入 $3\sim 5\text{ mL}$ Hepes-NaOH提取液, 通过4层纱布过滤, $15\ 000\times g$

冷冻离心 10 min , 上清液用于SSS和SBE活性的测定, 沉淀悬浮在 2 mL 缓冲液中用于GBSS活性的测定。SSS和GBSS活性测定参考Nakamura等(1989)的方法, SBE活性测定参考李太贵等(1997)的方法。

5 数据分析

采用Excel软件和激光衍射粒度分析仪自带软件作图, SPSS软件进行相关性分析。

实验结果

1 淀粉粒平均粒径的变化

由图1可知, 籽粒发育过程中, 7个糯玉米品种胚乳淀粉粒的平均粒径呈现增加的变化趋势, 由授粉后5 d的 $2.26\sim 3.85\ \mu\text{m}$ 迅速增加到授粉后30 d的 $11.12\sim 13.19\ \mu\text{m}$, 然后缓慢增加到成熟期的 $12.33\sim 14.54\ \mu\text{m}$ 。品种间比较, 籽粒发育后期‘紫糯208’淀粉粒平均粒径显著小于其他品种, ‘西星黄糯6号’淀粉粒平均粒径较大。

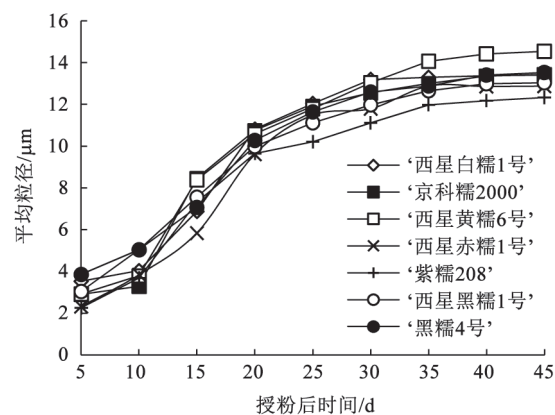


图1 糯玉米籽粒发育过程中胚乳淀粉粒的平均粒径

Fig.1 Mean diameter of starch granule in waxy corn endosperm during kernel development

2 大、小淀粉粒体积的变化

根据激光衍射粒度分析仪测定结果, 糯玉米成熟期的淀粉粒体积呈三峰曲线分布(图2)。本文以三峰曲线第二个谷值 $7.4\ \mu\text{m}$ 为界线, 将淀粉粒划分为大($> 7.4\ \mu\text{m}$)、小($\leq 7.4\ \mu\text{m}$)两部分。

由图3可知, 籽粒发育过程中, 7个糯玉米品种胚乳小淀粉粒所占体积不断减少, 大淀粉粒所占体积不断增多。授粉后5 d时, 糯玉米胚乳中淀粉

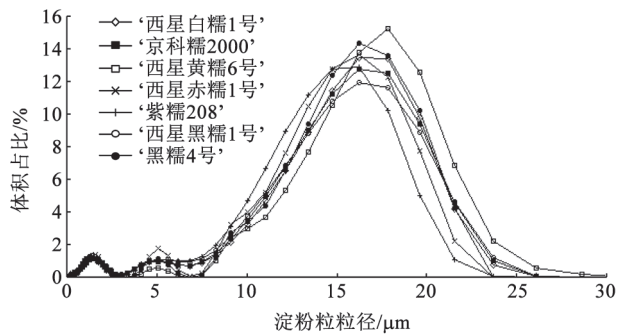


图2 糯玉米成熟期胚乳淀粉粒的体积分布
Fig.2 Starch granule volume distribution in mature waxy corn endosperm

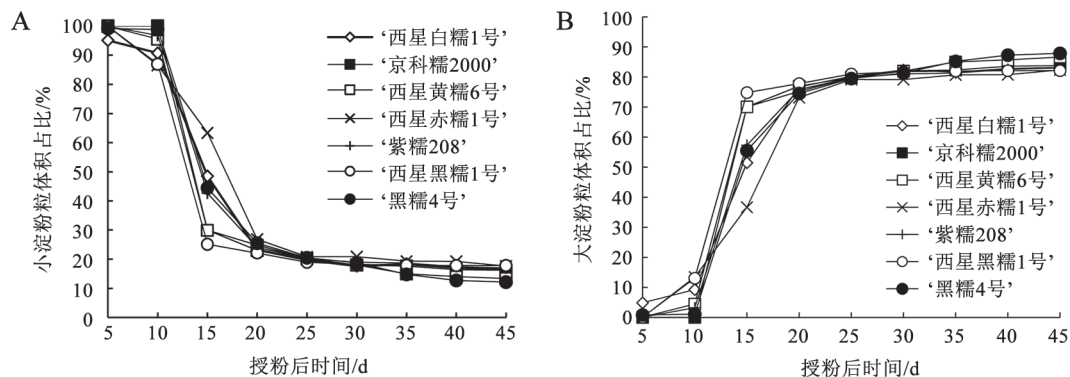


图3 糯玉米籽粒发育过程中胚乳大、小淀粉粒的体积变化

Fig.3 Changes in volume percentages of large and small starch granules in waxy corn endosperm during kernel development

3 淀粉合成酶活性的变化

由图4可知, 籽粒发育过程中, 7个糯玉米品种籽粒中SSS和SBE活性均呈先升高后降低的变化, 在授粉后15 d时活性最高, 且籽粒发育后期的活性小于发育前期(图4-A、C); 而GBSS活性一直低于 $2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$, 且无规律变化(图4-B), 可见糯玉米籽粒发育过程中几乎不存在GBSS。

4 淀粉合成酶活性与淀粉粒粒度分布的关系

由于糯玉米籽粒发育过程中基本没有GBSS活性, 因此仅对SSS和SBE活性与大、小淀粉粒体积变化速率的关系进行了分析。结果表明, 7个糯玉米品种籽粒中SSS和SBE活性均与小淀粉粒体积减小速率和大淀粉粒体积增大速率呈显著或极显著正相关, 即SSS、SBE活性越高, 小淀粉粒所占体积越小, 大淀粉粒所占体积越大; SSS和SBE活性与淀粉粒平均粒径的增大速率呈显著或极显著正相关, 即SSS、SBE活性越大, 淀粉粒的平均

粒径几乎全部为小淀粉粒; 授粉后10 d时, 小淀粉粒所占体积有所减少, 与此同时, 大淀粉粒开始产生; 从授粉后10 d开始, 小淀粉粒所占体积呈先急剧后缓慢下降的变化, 到授粉后30 d时为20%左右, 而大淀粉粒所占体积表现为先急剧后缓慢增多的变化, 到授粉后30 d时为80%左右; 之后, 一直到籽粒成熟, 小、大淀粉粒所占体积基本不发生变化。说明籽粒发育前期, 糯玉米以小淀粉粒为主; 随着籽粒发育, 小淀粉粒所占体积减少, 大淀粉粒所占体积增多; 籽粒发育后期, 以大淀粉粒所占体积为主。

粒径越大(表1)。可见, SSS和SBE活性是影响糯玉米淀粉粒形成及粒度分布的关键因素。

讨论

1 糯玉米籽粒发育过程中淀粉粒粒径的变化

禾谷类作物淀粉含量占胚乳细胞的90%左右, 对作物品质起决定作用。淀粉以淀粉粒的形式存在, 淀粉粒形成是一个受生长发育调节的过程(Bechtel等1990)。对小麦的研究表明, 淀粉粒在前期增大较快, 后期相对稳定(Zhang等2010); 对木薯(Huang等2006)和菱角(Chiang等2007)的研究发现, 随着生育进程的推进淀粉粒粒径逐渐增加; 而在马铃薯上则发现淀粉粒粒径呈先升高后降低的变化(Noda等2004)。在糯玉米中, 通过显微镜观察发现, 随着籽粒发育淀粉粒平均粒径逐渐增大, 且在授粉后0~10 d增大最快(张海艳2009)。本试验中, 通过激光衍射粒度分析仪分析发现, 糯玉米淀粉

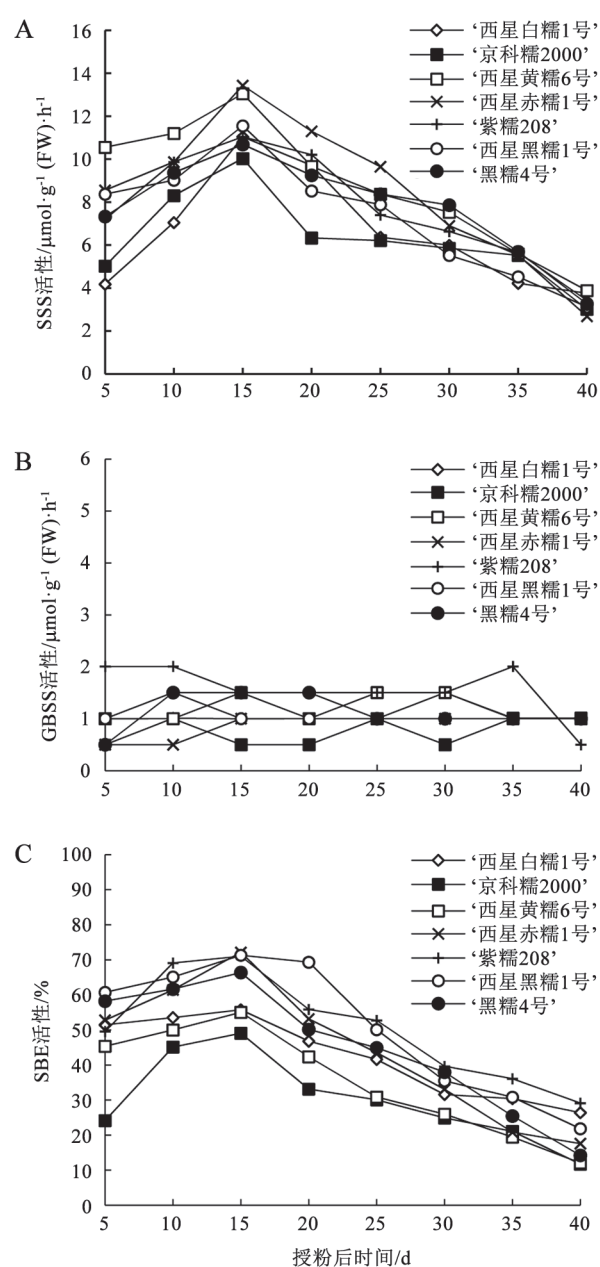


图4 糯玉米籽粒发育过程中淀粉合成酶活性的变化
Fig.4 Changes in starch synthetic enzyme activity in waxy corn during kernel development

粒平均粒径呈增加趋势, 籽粒发育前期(授粉后30 d前)增加较快, 后期相对稳定。这与前人研究结果不完全一致, 可能与作物种类、品种类型以及淀粉粒提取、测定和统计方法等有关。就本试验采用的激光衍射粒度分析仪而言, 测定时淀粉与水的比例、光学模型的选用及淀粉分散程度等也会对测定结果产生影响。

表1 淀粉合成酶活性与淀粉粒粒度分布的相关分析

Table 1 Correlation analysis of starch synthetic enzyme activity and starch granule size distribution

品种	淀粉合成酶活性	小淀粉粒体积减小速率 (大淀粉粒体积增大速率)	平均粒径 增大速率
'西星白糯1号'	SSS	0.83**	0.98**
	SBE	0.80*	0.74*
'京科糯2000'	SSS	0.88**	0.93**
	SBE	0.89**	0.95**
'西星黄糯6号'	SSS	0.75*	0.97**
	SBE	0.76*	1.00**
'西星赤糯1号'	SSS	0.85**	0.94**
	SBE	0.91**	0.90**
'紫糯208'	SSS	0.81**	0.88**
	SBE	0.88**	0.93**
'西星黑糯1号'	SSS	0.74*	0.94**
	SBE	0.68*	0.96**
'黑糯4号'	SSS	0.72*	0.86**
	SBE	0.68*	0.82**

*和**分别表示差异在0.05水平显著和0.01水平极显著。

2 淀粉合成酶活性与淀粉粒粒度分布的关系

前人报道, 植物贮藏器官中, SSS和SBE共同作用合成支链淀粉。本试验中, 籽粒发育过程中, SSS和SBE的活性呈单峰变化, 这与小麦(闫素辉等2007; 王自布等2010)和水稻(张玲等2008)中的研究相同。前人研究认为, 小麦灌浆期间强势粒和弱势粒的淀粉粒粒度分布与淀粉合成酶活性变化及其基因表达有着密切关系(Zhang等2010); SBE容易与小麦A型淀粉粒结合, 不易与B型淀粉粒结合(Peng等2000); 大麦*shx*位点突变体中, SSI活性降低, A型淀粉粒粒径减小, 粒径分布变为单峰曲线, 即SSI影响大麦淀粉粒的粒径大小(Tyynelä等1995)。本试验中, SSS和SBE活性与小淀粉粒体积减小速率、大淀粉粒体积及淀粉粒平均粒径的增大速率呈显著或极显著正相关, 说明SSS和SBE影响糯玉米胚乳淀粉粒粒度分布, 酶活性越高, 粒径越大, 大淀粉粒所占体积越多。然而, 淀粉生物合成酶具有多种同工型, 究竟哪种同工型与淀粉粒粒度分布形成密切相关, 还有待进一步研究。

参考文献

- 李太贵, 沈波, 陈能, 罗玉坤(1997). Q酶在水稻籽粒蛋白形成中作用的研究. 作物学报, 23 (3): 338-344
陆大雷, 郭焕粉, 董策, 陆卫平(2010). 生长季节对糯玉米淀粉粒分布和热力学特性的影响. 作物学报, 36 (11): 1998-2003

- 王自布, 银永安, 曹连莆, 王泽民, 侯睿睿, 李卫华, 齐军仓(2010). 淀粉含量不同的两类小麦品种籽粒淀粉积累及关键酶活性的变化. 麦类作物学报, 30 (2): 259~265
- 闫素辉, 王振林, 戴忠民, 李文阳, 付国占, 贺明荣, 尹燕桦(2007). 两个直链淀粉含量不同的小麦品种籽粒淀粉合成酶活性与淀粉积累特征比较. 作物学报, 33 (1): 84~89
- 银永安, 齐军仓, 李卫华, 曹连莆, 王自布(2010). 小麦胚乳A、B型淀粉理化特性研究. 中国农业科学, 43 (11): 2372~2379
- 印志同, 薛林, 陈国清, 陆虎华, 黄晓兰, 石明亮(2006). 糯玉米育种概况及育种方法探讨. 玉米科学, 14 (2): 33~34, 39
- 张海艳(2009). 不同类型玉米生长过程中淀粉特性变化的比较. 中国粮油学报, 24 (8): 58~61
- 张玲, 谢崇华, 李伟, 杨国涛(2008). 氮钾对杂交水稻B优827籽粒淀粉含量及淀粉合成酶活性的影响. 中国水稻科学, 22 (5): 551~554
- Bechtel DB, Zayas I, Kaleikau L, Pomeranz Y (1990). Size-distribution of wheat starch granules during endosperm development. Cereal Chem, 67 (1): 59~63
- Chiang PY, Li PH, Huang CC, Wang CCR (2007). Changes in functional characteristics of starch during water caltrop (*Trapa quadrispinosa* Roxb.) growth. Food Chem, 104 (1): 376~383
- Huang CC, Lin MC, Wang CCR (2006). Changes in morphological, thermal and pasting properties of yam (*Dioscorea alata*) starch during growth. Carbohydr Polym, 64 (4): 524~531
- Nakamura Y, Yuki K, Park S-Y, Ohya T (1989). Carbohydrate metabolism in the developing endosperm of rice grains. Plant Cell Physiol, 30 (6): 833~839
- Noda T, Tsuda S, Mori M, Takigawa S, Matsuura-Endo C, Saito K, Mangalika WHA, Hanaoka A, Suzuki Y, Yamauchi H (2004). The effect of harvest dates on the starch properties of various potato cultivars. Food Chem, 86 (1): 119~125
- Peng M, Gao M, Abdel-Aal ESM, Hucl P, Chibbar RN (1999). Separation and characterization of A- and B-type starch granules in wheat endosperm. Cereal Chem, 76 (3): 375~379
- Peng M, Gao M, Båga M, Hucl P, Chibbar RN (2000). Starch-branching enzymes preferentially associated with A-type starch granules in wheat endosperm. Plant Physiol, 124 (1): 265~272
- Singh GD, Bawa AS, Singh S, Saxena DC (2009). Physicochemical, pasting, thermal and morphological characteristics of Indian water chestnut (*Trapa natans*) starch. Starch, 61 (1): 35~42
- Tetlow IJ (2011). Starch biosynthesis in developing seeds. Seed Sci Res, 21: 5~32
- Tyynelä J, Stitt M, Lönneborg A, Smeekens S, Schulman AH (1995). Metabolism of starch synthesis in developing grains of the *shx* shrunken mutant of barley (*Hordeum vulgare*). Physiol Plant, 93 (1): 77~84
- Wei C, Zhang J, Chen Y, Zhou W, Xu B, Wang Y, Chen J (2010). Physicochemical properties and development of wheat large and small starch granules during endosperm development. Acta Physiol Plant, 32 (5): 905~916
- Zhang C, Jiang D, Liu F, Cai J, Dai T, Cao W (2010). Starch granules size distribution in superior and inferior grains of wheat is related to enzyme activities and their gene expressions during grain filling. J Cereal Sci, 51 (2): 226~233