

鲜食糯玉米采后糖代谢相关酶活性变化

龚魁杰*, 陈利容, 赵全胜, 刘雪梅

山东省农业科学院作物研究所, 济南 250100

摘要: 鲜食糯玉米采后腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADPGPPase)、尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UDPGPPase)、束缚态淀粉合成酶(GBSS)、淀粉脱分支酶(DBE)等活性均呈现单峰曲线变化, 第1~2天出现峰值然后略有下降; 可溶性淀粉合成酶(SSS)活性呈较大幅度上升趋势, 活性远高于采收初期; 淀粉分支酶(SBE)在第3天出现极高峰值。与20℃贮藏温度相比, 采后0℃低温贮藏可增强UDPGPPase活性, 促进蔗糖降解; 降低SSS和GBSS活性, 延缓淀粉合成进程; 抑制SBE活性, 增强DBE活性, 促进直链淀粉生成。

关键词: 鲜食糯玉米; 采后生理; 糖代谢相关酶; 低温贮藏

Changes of Enzyme Activities Associated with Carbohydrate Metabolism in Postharvest Fresh *Zea mays* L. *sinensis* Kulesh

GONG Kui-Jie*, CHEN Li-Rong, ZHAO Quan-Sheng, LIU Xue-Mei

Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China

Abstract: The activities of UDP-glucose pyrophosphorylase (UDPGPPase), ADP-glucose pyrophosphorylase (ADPGPPase), granule-bound starch synthase (GBSS) and starch-debranching enzyme (DBE) in the postharvest fresh waxy corn (*Zea mays* L. *sinensis* Kulesh) all showed a single peak curve, which reached the peak value on the first or the second day and then declined slightly. The activity of soluble starch synthase (SSS) increased significantly, while the activity of starch branching enzyme (SBE) appeared the peak value on the third day. Compared with the condition of 20℃, the activity of UDPGPPase increased to promote the sucrose degradation, the activities of SSS and GBSS reduced to slow down the process of starch synthesis, the activity of SBE was restrained while DBE strengthened to promote the amylose synthesis when stored at 0℃.

Key words: fresh waxy corn (*Zea mays* L. *sinensis* Kulesh); postharvest physiology; enzyme associated with carbohydrate metabolism; low temperature storage

鲜食糯玉米采收时淀粉含量较高, 组成物质与大多数高水分、高可溶性糖含量的果蔬有较大差异, 形成了不同的采后生理基础(王纪华等1996; 张玉等2004)。国内外目前对高淀粉含量的果蔬采后生理研究较少, 因而高淀粉含量果蔬的贮藏、加工和品质保持技术仍然处于较低的水平, 对于产业发展和产品品质的稳定制约较大。国内外有不少研究开展了对鲜食型糯玉米生长期糖代谢及相关酶活性变化的研究(Ou-Lee 和 Setter 1985; 刘鹏等 2005; Zhang等2007), 但对于采后的糖代谢进程及相关酶活性变化还很少有研究涉及。本文通过研究鲜食糯玉米采后的糖代谢相关酶活性变化, 为鲜食型糯玉米的采后贮藏加工技术提供理论依据。

材料与amp;方法

鲜食糯玉米(*Zea mays* L. *sinensis* Kulesh)品种

‘中糯1号’在本所试验场种植, 授粉后第24天采收。为保证所取果穗的一致性, 采收时选择生长发育一致的植株, 每组处理取30个果穗分别以20℃和0℃贮藏于恒温库中, 贮藏期间每天定时取5个果穗的中部籽粒混匀后用液氮速冻, -40℃保存, 用于进行酶学分析。

提取酶液时, 准确称取1.0 g籽粒样品, 加入10 mL pH 7.5的Hepes-NaOH缓冲液, 于冰浴中研磨。取30 μL匀浆液, 加1.8 mL pH 7.5的Hepes-NaOH缓冲液, 1000×g冰冻离心1 min, 沉淀经pH 7.5的Hepes-NaOH缓冲液悬浮后用于束缚态淀粉合成

收稿 2010-07-25 修定 2010-10-22

资助 山东省自然科学基金(Y2007D66)。

* 通讯作者(E-mail: gongkj@sina.com; Tel: 0531-83178585)。

酶(granule-bound starch synthase, GBSS)活性的测定, 其余匀浆 $10\ 000\times g$ 冷冻离心2 min, 上清液用来测定腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase, ADPGPPase)、尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-glucose pyrophosphorylase, UDPGPPase)、可溶性淀粉合成酶(soluble starch synthase, SSS)、淀粉分支酶(starch-branching enzyme, SBE)、淀粉脱分支酶(starch-debranching enzyme, DBE)。

ADPGPPase 和 UDPGPPase 活性测定参照 Ruffy 等(1983)以及 Nakamura 和 Imamura (1985)的方法; SSS 和 GBSS 活性测定参照梁建生等(1994)的方法; SBE 和 DBE 活性测定参照 Kubo 等(1999)及 Zhang 等(2007)的方法。

结果与讨论

1 鲜食糯玉米采后 UDPGPPase 活性变化

鲜食糯玉米籽粒生长发育过程中 UDPGPPase 催化 UDPG 生成 1-磷酸葡萄糖(glucose-1-phosphate, G-1-P), 对于淀粉合成直接底物 ADPG 的生成具有重要作用(刘坚和李晚忱 2005; 张海燕等 2008)。采后鲜食糯玉米 UDPGPPase 活性基本表现为单峰曲线变化(图1), 不同贮藏温度对曲线的变化趋势基本无影响, 20 °C 和 0 °C 贮藏条件下, 分别在采后第 1 天和第 2 天出现峰值。第 1 天后 20 °C 条件下 UDPGPPase 活性基本呈直线下降, 远低于采收初期, 表明 G-1-P 的生成能力大幅降低。0 °C 贮藏条件下, 峰值出现后 UDPGPPase 活性在第 4 天时略有升高, 但总体呈现下降趋势, 与 20 °C 贮藏条件不同, 0 °C 贮藏期间 UDPGPPase 活性都明显高于采收初期, 表明低温贮藏会促进 UDPGPPase 活性增强。由于 UDPGPPase 的催化反应以蔗糖等还原糖为底物, 这也可以解释鲜食糯玉米经过低温冷藏后反而没有甜味的现象。

2 鲜食糯玉米采后 ADPGPPase 活性变化

ADPGPPase 的作用是催化 G-1-P 转化为 ADPG, ADPG 是淀粉合成的直接底物(刘坚和李晚忱 2005; 刘鹏等 2005)。与 UDPGPPase 活性的变化相似, ADPGPPase 活性也总体表现为先出现峰值然后逐步下降, 但 ADPGPPase 活性峰值并不明显(图2)。不同贮藏温度对曲线的变化趋势基本无影响,

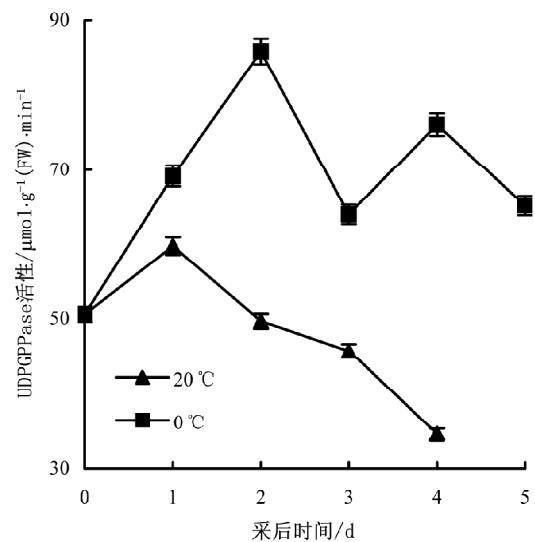


图1 鲜食糯玉米采后 UDPGPPase 活性变化
Fig.1 Changes of UDPGPPase activity in postharvest fresh waxy corn

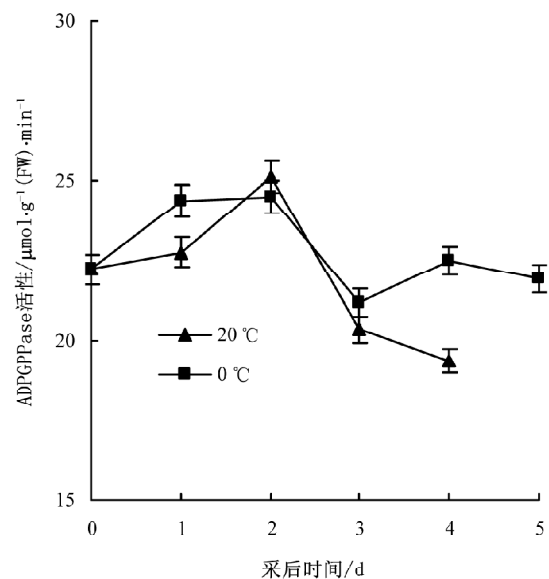


图2 鲜食糯玉米采后 ADPGPPase 活性变化
Fig.2 Changes of ADPGPPase activity in postharvest fresh waxy corn

响, 20 °C 和 0 °C 贮藏条件下 ADPGPPase 活性在同一贮藏期内差异不大, 而且贮藏终期和采收初期的差异也较小, 表明不同温度和贮藏时间对 ADPGPPase 活性影响很小, 这也说明 ADPGPPase 不是鲜食糯玉米采后淀粉合成的限速因子。比较 UDPGPPase 与 ADPGPPase 活性变化可发现, 常温贮藏条件下,

UDPGPPase 和 ADPGPPase 表现出较好的协同作用, 活性都呈现下降趋势。

3 鲜食糯玉米采后 SSS 活性变化

SSS 催化 ADPG 与淀粉引物(葡聚糖)反应, 将葡萄糖分子转移到淀粉引物上, 以 α -1,4 糖苷键形成直链淀粉, 使淀粉链延长(刘奇华等 2006)。不同贮藏条件的鲜食糯玉米表现了相反的 SSS 活性变化: 20 °C 贮藏条件下, SSS 活性随贮藏时间增加而不断上升; 0 °C 条件下则随贮藏时间增加而表现为总体缓慢下降(图 3)。表明贮藏温度的变化能够显著改变 SSS 的活性, 低温能够抑制 SSS 的活性, 从而减缓淀粉的合成进程。

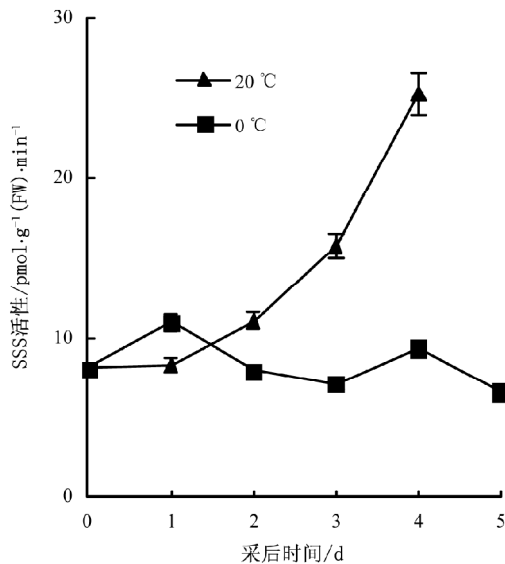


图3 鲜食糯玉米采后 SSS 活性变化

Fig.3 Changes of SSS activity in postharvest fresh waxy corn

4 鲜食糯玉米采后 GBSS 活性变化

GBSS 同样将葡萄糖分子连接到淀粉分子链上, 与 SSS 不同的是, GBSS 必须在淀粉粒内部形成一定的晶体结构后才能起作用(刘鹏等 2005)。鲜食糯玉米 GBSS 活性采后总体呈缓慢下降趋势, 20 °C 贮藏条件下第 2 天时略有上升, 但幅度不大, 0 °C 条件下则基本表现为平稳下降, 而且 0 °C 条件下的活性略低于 20 °C 贮藏条件下的(图 4), 表明低温能够降低 GBSS 活性, 并与 SSS 一起减缓淀粉的合成进程。

5 鲜食糯玉米采后 SBE 活性变化

SBE 又称 Q 酶, 作用是切开 α -1,4 糖苷键, 把

切下的多糖链以 α -1,6 键连接形成支链淀粉(王文静等 2004)。鲜食糯玉米采后在两种试验贮藏条件下, 表现出不同的 SBE 活性变化: 0 °C 贮藏条件下 SBE 活性表现平稳, 在贮藏期间基本没有变化; 20 °C 条件下则在第 3 天出现峰值, 第 1、2、4 天均基本相同(图 5)。表明低温贮藏能够抑制 SBE 活性峰值的出现。

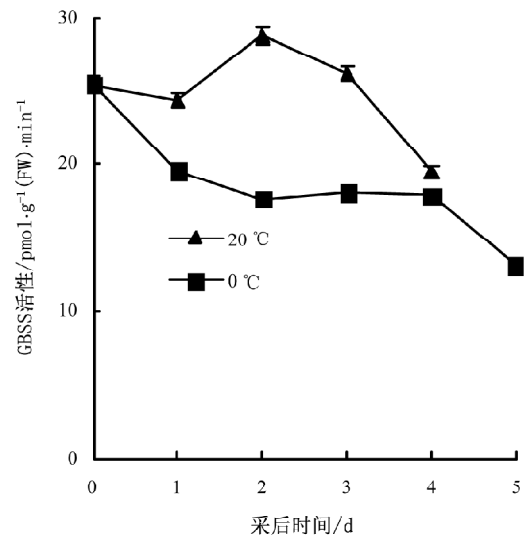


图4 鲜食糯玉米采后 GBSS 活性变化

Fig.4 Changes of GBSS activity in postharvest fresh waxy corn

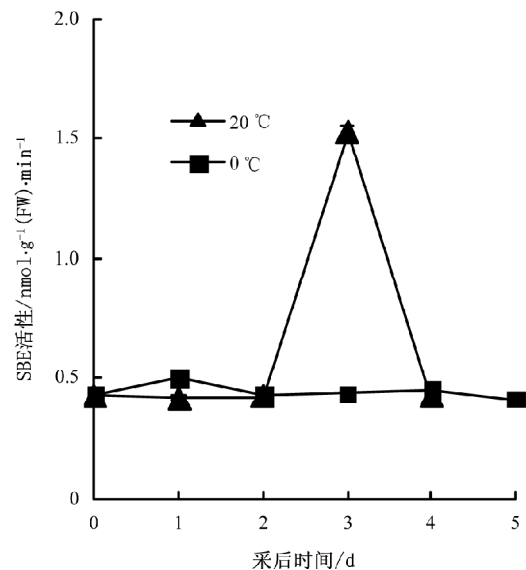


图5 鲜食糯玉米采后 SBE 活性变化

Fig.5 Changes of SBE activity in postharvest fresh waxy corn

6 鲜食糯玉米采后DBE活性变化

DBE又称R酶,能专一性地裂解支链淀粉的 α -1,6糖苷键,形成直链淀粉(刘坚和李晚忱 2005)。鲜食糯玉米采后DBE活性呈现一定的单峰曲线变化,0℃贮藏条件下,单峰曲线更为明显,与20℃贮藏条件相比,0℃时的DBE活性大多较高(图6)。表明低温会促进DBE活性,结合SBE活性变化,可以发现低温贮藏条件下,SBE和DBE表现了较好的协同作用,能够共同抑制支链淀粉的合成,促进直链淀粉的生成。

7 鲜食糯玉米采后糖代谢相关酶关系分析

鲜食糯玉米采后的淀粉合成进程是由多个相关酶共同完成的,各个酶的活性变化往往会影响到其他酶或被其他酶的活性变化所影响。相关性分析(表1、表2)表明,各个酶的活性之间有一定相关性,不同温度贮藏对酶之间的相关性有较大影响。20℃贮藏条件下,UDPGPPase与ADPGPPase呈极显著正相关,表明了二者良好的协同调节淀粉合成的作用;DBE与SSS呈显著负相关,与GBSS

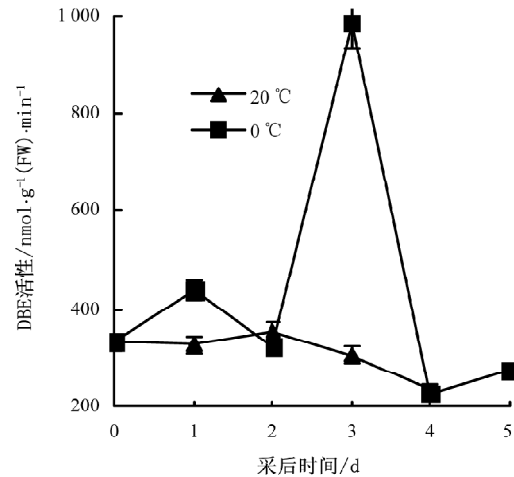


图6 鲜食糯玉米采后DBE活性变化
Fig.6 Changes of DBE activity in postharvest fresh waxy corn

呈显著正相关,说明DBE活性变化能够起到一定的调控淀粉合成进程的作用,但这种作用对于SSS和GBSS正好相反,其机理仍有待探讨。

表1 常温贮藏鲜食糯玉米采后糖代谢相关酶活性关系

Table 1 Relationship of enzyme activities associated with carbohydrate metabolism in postharvest fresh waxy corn stored at 20℃

酶	UDPGPPase	ADPGPPase	SSS	GBSS	SBE
ADPGPPase	0.993**	1			
SSS	-0.859	-0.828	1		
GBSS	0.299	0.256	-0.718	1	
SBE	-0.484	-0.484	0.163	0.221	1
DBE	0.587	0.587	-0.922*	0.921*	-0.056

*和**显著性水平分别为0.05和0.01。

表2 低温贮藏鲜食糯玉米采后糖代谢相关酶活性关系

Table 2 Relationship of enzyme activities associated with carbohydrate metabolism in postharvest fresh waxy corn stored at 0℃

酶	UDPGPPase	ADPGPPase	SSS	GBSS	SBE
ADPGPPase	0.676	1			
SSS	0.169	-0.505	1		
GBSS	0.350	0.189	0.31	1	
SBE	0.163	-0.563	0.920**	0.185	1
DBE	-0.187	-0.069	-0.235	0.026	0.078

**显著性水平为0.01。

与 20 °C 贮藏条件不同, 0 °C 贮藏条件下 SBE 与 SSS 呈极显著正相关。两种贮藏温度下表现了不一致甚至相反的酶之间关系, 这也表明了温度差异对酶活性的影响。也有一些酶之间虽然关系没有达到显著性差异, 但也表现了一定的相互关系, 其中 SSS 与 UDPGPPase 和 ADPGPPase、GBSS 与 SSS 都表现了较大程度的关联特性。

参考文献

- 梁建生, 曹显祖, 徐生, 朱庆森, 宋平(1994). 水稻籽粒库强与其淀粉积累之间关系的研究. 作物学报, 20 (6): 689~691
- 刘坚, 李晚忱(2005). 甜、糯玉米的分子机理. 玉米科学, 13 (2): 60~63
- 刘鹏, 胡昌浩, 董树亭, 王空军, 张吉旺, 张保仁(2005). 甜质型与普通型玉米籽粒发育过程中糖代谢相关酶活性的比较. 中国农业科学, 38 (1): 52~58
- 刘奇华, 蔡建, 李天(2006). 水稻籽粒中的淀粉合成关键酶及其与籽粒灌浆和稻米品质的关系. 植物生理学通讯, 42 (6): 1211~1216
- 王纪华, 王树安, 赵冬梅, 倪军昌(1996). 玉米籽粒发育的调控研究. III. 离体条件下的化学调控机理探讨. 作物学报, 22 (2): 208~213
- 王文静, 王惠杰, 乔卿梅(2004). 不同穗型冬小麦品种蔗糖和淀粉合成中关键性酶的活性变化. 植物生理学通讯, 40 (4): 423~426
- 张海燕, 董树亭, 高荣岐, 李玉全(2008). 玉米籽粒淀粉积累及相关酶活性分析. 中国农业科学, 41 (7): 2174~2181
- 张玉, 陈昆松, 张上隆, 王建华(2004). 猕猴桃果实采后成熟过程中糖代谢及其调节. 植物生理与分子生物学学报, 30 (3): 317~324
- Kubo A, Fujita N, Harada K, Matsuda T, Satoh H, Nakamura Y (1999). The starch-debranching enzymes isoamylase and pullulanase are both involved in amylopectin biosynthesis in rice endosperm. *Plant Physiol*, 121: 399~409
- Ou-Lee T-M, Setter TL (1985). Effect of increased temperature in apical regions of maize ears on starch-synthesis enzymes and accumulation of sugars and starch. *Plant Physiol*, 79: 852~855
- Nakamura Y, Imamura M (1985). Regulation of ADP-glucose pyrophosphorylase from *Chlorella vulgaris*. *Plant Physiol*, 78: 601~605
- Rufty TW Jr, Kerr PS, Huber SC (1983). Characterization of diurnal changes in activities of enzymes involved in sucrose biosynthesis. *Plant Physiol*, 73: 428~433
- Zhang HY, Dong ST, Gao RQ, Li YQ (2007). Comparison of starch synthesis and related enzyme activities in developing grains among different types of maize. *J Plant Physiol Mol Biol*, 33 (1): 25~32