

板栗淀粉合成关键酶基因的表达分析

姜奕晨, 李兴亮, 秦 岭*

(北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206)

板栗为壳斗科 (Fagaceae) 栗属 (*Castanea* Mill.) 植物, 是我国传统的农副产品, 因其淀粉含量高, 具有被开发为粮食作物的潜在价值而素有“木本粮食”之称。如何提高淀粉含量, 调整淀粉种类构成是板栗高产优质的难题, 而支链淀粉是北方板栗品质评价的重要指标之一, 其含量愈高, 板栗糯性、口感、炒食品质等愈好。为了解板栗成熟过程中调控淀粉合成及种类构成的关键合成酶基因的表达特性, 拟通过对支链淀粉、直链淀粉含量的测定及 ADP 葡萄糖焦磷酸化酶 (AGPase)、淀粉粒紧密结合的淀粉合酶 (GBSS)、可溶性淀粉合酶 (SSS)、淀粉分支酶 (SBE) mRNA 表达水平的检测, 确定板栗淀粉合成过程中的关键调控基因, 为通过酶基因调节, 改良品质育种及改善板栗品质进行前期探索。

以北京市怀柔板栗试验站提供的‘燕红’板栗果实为试材, 自然授粉后 50 d (2010-08-03) 至果实发育成熟 (2010-09-23), 每隔 7 d 进行 1 次采样, 共采集 8 次。采集后立即取果肉浸于液氮速冻, 之后于 -80 °C 超低温冰箱保存。

方法: ①紫外分光光度法测定板栗各时期果实的总淀粉、直链淀粉和支链淀粉含量; ②同源克隆法获得板栗淀粉合成关键酶基因 AGPase、GBSS、SSS 和 SBE I 的基因序列; ③qRT-PCR 法检测各酶基因在不同时期的 mRNA 表达情况, 结合淀粉含量测定结果分析板栗淀粉合成过程中的关键调控基因。

在板栗果实发育过程中, 其总淀粉含量由初始的 0.42% 增加到 19.69%, 支链淀粉含量由 0.21% 增加到 15.23%, 直链淀粉含量由 0.03% 增加到 2.43% (均为按湿重计)。经核酸、氨基酸序列比对确定, 获得了板栗 AGPase、GBSS、SSS 及 SBE I 的基因序列。RT-qPCR 检测结果显示, 相对于 SSS、SBE 而言, AGPase、GBSS 在果实发育过程中表达量持续偏低, 各时期表达量无显著差异 ($P > 0.05$); 而 SSS、SBE I 前期表达量较低, 自 9 月 7 日起其表达量持续升高, 9 月 23 日表达量达到最大值, 极显著高于前期表达水平 ($P < 0.01$), 且为同期 AGPase、GBSS 表达量的 4 ~ 13 倍。SSS、SBE I mRNA 表达量变化趋势基本与实际测得的总淀粉含量、支链淀粉含量的变化趋势相一致, 由此初步确定 SSS、SBE 分别是总淀粉、支链淀粉合成的限速酶, 其表达水平与淀粉含量及种类构成相关。综上, 从酶基因调节角度提高板栗淀粉含量, 改善相关品质, SSS、SBE I 的表达调节将成为着手点。

关键词: 板栗; 淀粉; qRT-PCR

中图分类号: S 664.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2493-01

收稿日期: 2011-07-28

基金项目: 北京市教委果树重点学科建设项目

* 通信作者 (E-mail: qinling@bac.edu.cn)