

甜玉米籽粒糖代谢关键调控基因的鉴定

林建新 林静 张扬 卢和顶 陈山虎 廖长见*

(福建省农业科学院作物研究所/福建省特色旱作物品种选育工程技术研究中心, 福州 350013)

摘要 为了探究甜玉米籽粒形成过程中还原糖、可溶性糖和蔗糖含量变化规律及糖代谢关键调控基因, 选取授粉后10天、15天、20天、25天和30天这几个时间点进行含糖量检测和转录组分析。结果显示还原糖含量在授粉后10天最高, 约15 mg/g, 此后逐渐下降到约4 mg/g。可溶性糖和蔗糖含量变化均呈现先升高后降低的趋势, 两者在授粉后15天左右达到峰值, 随后逐渐降低。PCA分析结果表明, 授粉后10天的样本可以明显与其他时间点样本区分开, 而授粉后15天~30天之间的时间点, 样本区分度不大, 表明授粉后10天时的籽粒发育与15天后的发育模式存在很大的不同。以授粉后10天样本基因的表达量为参照, 对221个淀粉和蔗糖代谢通路上的基因进行分析, 发现绝大部分注释基因在籽粒发育过程中不表达或低表达。有6个注释基因在授粉后15天持续高表达, 分别是编码淀粉合成酶(EC 2.4.1.21)的基因 *Zm00001d045261*、编码 α -葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.20)的基因 *Zm00001d036608*、编码颗粒结合型淀粉合成酶(EC 2.4.1.242)的基因 *Zm00001d033937*和 *Zm00001d045462*、编码葡萄糖-1-磷酸腺苷酰基转移酶(EC 2.7.7.27)的基因 *Zm00001d050032*及编码蔗糖合酶(EC 2.4.1.13)的基因 *Zm00001d045042*, 表明这6个编码基因在糖代谢过程中起着关键调控作用, 对甜玉米品质的形成具有至关重要的作用。该研究结果为今后鲜食甜玉米的分子育种工作提供了重要的基因资源。

关键词 甜玉米; 可溶性糖; 转录组; 糖代谢; 关键调控基因

Identification of Key Regulatory Genes for Sugar Metabolism in Sweet Corn

LIN Jianxin, LIN Jing, ZHANG Yang, LU Heding, CHEN Shanhu, LIAO Changjian*

(Institute of Crop Research, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Province Characteristic Dry Crop Variety Breeding Engineering Technology Research Center, Fuzhou 350013, China)

Abstract In order to explore the change pattern of reducing sugar, soluble sugar and sucrose content and the key regulatory genes of sugar metabolism during the formation of sweet corn grains, sugar content and transcriptome analysis were performed at 10, 15, 20, 25 and 30 days after pollination. The results showed that reducing sugar content was the highest at 10 days after pollination, approximate 15 mg/g and it gradually decreased to approximate 4 mg/g. Whereas, the content of soluble sugar and sucrose increased firstly and then decreased, and reached the peak about 15 days after pollination, and then gradually decreased. PCA analysis showed that samples at 10 days could be obviously

收稿日期: 2023-02-02 接受日期: 2023-04-03

福建省省属公益类科研院所基本科研专项(批准号: 2020R1031005、2021R1031006)、福建省农业科学院自由探索科技创新项目(批准号: ZYTS202204)、福建省种业创新与产业化工程项目(批准号: zycxny2021006)、福建省科技厅重大专项(批准号: 2020NZ08017)、福建省农业种质资源创新专项(批准号: ZZZYCXZX202201)和福建省农业科学院科技创新团队项目(批准号: CXTD2021011-2)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0591-87572110, E-mail: liaocj1978@163.com

Received: February 2, 2023

Accepted: April 3, 2023

This work was supported by the the Fundamental Scientific Research Project of Public Scientific Research Institution in Fujian Province (Grant No.2020R1031005, 2021R1031006), the Free Exploration of Science and Technology Innovation Project of Fujian Academy of Agricultural Sciences (Grant No.ZYTS202204), the Seed Industry Innovation and Industrialization Project of Fujian Province (Grant No.zycxny2021006), the Major Project of Science and Technology Department of Fujian Province (Grant No.2020NZ08017), the Agricultural Germplasm Resources Innovation Project of Fujian Province (Grant No. ZZZYCXZX202201), and the Science and Technology Innovation Team Project of Fujian Academy of Agricultural Sciences (Grant No.CXTD2021011-2)

*Corresponding author. Tel: +86-591-87572110, E-mail: liaocj1978@163.com

distinguished from samples at other time points, while samples at 15 days to 30 days did not show significant different, indicating that the development pattern of kernel at 10 days after pollination was significant different from that at 15 days after pollination. The gene expression levels at 10 days after pollination was used as control, a total of 221 genes in the metabolic pathways of starch and sucrose were analyzed, as results revealed that most of the annotated genes were not expressed or low expressed during kernel development. There were six annotated genes, *Zm00001d045261* encoding starch synthase (EC 2.4.1.21), *Zm00001d036608* encoding α -glucosidase (EC 3.2.1.20), *Zm00001d033937* and *Zm00001d045462* encoding granule-binding starch synthase (EC 2.4.1.242), *Zm00001d050032* encoding glucose-1-adenosine acyltransferase (EC 2.7.7.27) and *Zm00001d045042* encoding sucrose synthase (EC 2.4.1.13), were highly expressed at 15 days after pollination, strongly indicating that these six coding genes play a key regulatory role in the process of glucose metabolism, which plays an important role in the formation of sweet corn quality. The results of this study provide important genetic resources for the molecular breeding of fresh sweet maize in the future.

Keywords sweet maize; soluble sugar; transcriptome; sugar metabolism; key regulatory genes

超甜玉米, 又称水果、蔬菜玉米, 是玉米属(*Zea mays* L.)的一个亚种^[1]。由于乳熟期超甜玉米籽粒可溶性糖含量较高, 甜味浓郁, 并携带玉米特有的香味, 因此超甜玉米深受消费者喜欢, 且对调整农业结构和提升农民收入具有重要作用^[2-4]。甜玉米的甜味是由于玉米中糖分合成途径中的一个或几个基因发生自然突变, 玉米中的淀粉合成受阻, 糖分难以转化成淀粉, 从而使蔗糖和还原糖等可溶性糖类在玉米籽粒中大量积累^[5-7], 而这些糖分的积累形成了甜玉米特殊风味的基础。目前报道影响玉米甜度的隐性基因有 *sh1*(shrunken1)、*sh2*(shrunken2)、*sh4*(shrunken4)、*su2*(sugary2)、*bt1*(brittle endosperm1)、*bt2*(brittle endosperm2)、*ael*(amylose extender1)等, 市场上主要的甜玉米类型是受胚乳突变基因*sh2*控制的超甜玉米^[8-9]。

玉米籽粒中碳水化合物的组成和含量是决定其品质的重要因素之一^[10], 碳水化合物主要为糖分, 包括单糖、寡糖和多糖等。可溶性糖是一类能溶于水 and 乙醇的糖, 包含绝大部分的单糖和寡糖, 如蔗糖、果糖、葡萄糖、麦芽糖、半乳糖、乳糖等。还原糖是一类能还原菲林试剂的糖, 包括: 葡萄糖、果糖、半乳糖、乳糖和麦芽糖等。而甜玉米籽粒中主要的糖积累形式是蔗糖、果糖和葡萄糖等可溶性糖, 且三者含量占可溶性糖的90%以上, 果糖和葡萄糖也统称为还原糖。它们的甜度从高到低依次为果糖、蔗糖和葡萄糖, 其中蔗糖在甜玉米籽粒中的含量最高, 占总糖的62%~77%, 且蔗糖与可溶性总糖呈正相关^[2,11]。

甜玉米籽粒糖分含量从雌花授粉后开始逐渐增加, 到乳熟期达到高峰, 之后糖分因转化成淀粉逐渐减少, 从而使得甜玉米的口感和营养品质下降^[12]。

甜玉米糖分积累与一系列因素有关, 但其中最重要的还是由基因型决定的糖分积累量的变化^[13]。甜玉米的食用品质随着籽粒的发育进程而产生变化, 同一品种采收期不同口感截然不同, 采收太早则籽粒嫩、水分多而干物质少, 口感差产量低; 采收过晚则籽粒老、果皮厚、可溶性糖含量降低, 食用品质下降, 因此, 需在最适宜的时期采收^[14-16]。

蔗糖和淀粉广泛分布在植物体各种组织中, 是植物碳水化合物的重要运转和存储物质, 蔗糖和淀粉代谢途径涉及的酶种类繁多^[17], 包括蔗糖合酶、腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶、淀粉分支酶、淀粉去分支酶和颗粒结合型淀粉合成酶。大量研究表明, 蔗糖和淀粉代谢途径相关酶对糖分代谢和累积有重要影响, 相关研究在苹果^[18]、瓜类^[19-21]、西红柿^[22-23]、小麦^[24-25]、玉米^[2,9,26-28]上均有报道, 赵福成等^[2]以超甜玉米扬甜2号和超甜135为材料, 研究籽粒发育过程中淀粉含量、糖组分和蔗糖代谢酶活性的动态变化规律, 并分析糖组分积累和蔗糖代谢酶的关系。但关于超甜玉米籽粒内各种糖组分动态变化、超甜玉米籽粒不同发育阶段基因的表达模式及影响糖代谢关键的调控基因的挖掘鲜见报道。本文以两个超甜玉米杂交种为材料, 对其籽粒发育过程中5个时间点的样本进行还原糖、可溶性糖和蔗糖含量测定, 解析超甜玉米籽粒发育过程中含糖量的变化规律并据此确定甜玉米的最佳采收期; 同时通过对籽粒发育过程中5个时间点的样本进行转录组分析, 了解超甜玉米籽粒在不同发育阶段的基因表达模式, 并挖掘影响糖代谢的关键调控基因, 为甜玉米分子育种奠定基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料为福建省农业科学院作物研究所选育的超甜玉米杂交种闽双色6号和闽甜6855, 均由本课题组在埔垵基地进行繁殖和保存。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 试验材料种植于福建省农业科学院作物研究所埔垵基地, 取授粉后10天、15天、20天、25天和30天这5个时间点的甜玉米籽粒10~15粒, 每个时间点做3次生物学重复, 并将样品置于液氮中速冻, 然后保存于 -80°C 冰箱备用。

1.2.2 还原糖、可溶性糖和蔗糖的测定 还原糖、可溶性糖和蔗糖的测定参照苏州格锐思生物科技有限公司的试剂盒说明书进行(还原糖含量试剂盒货号为G0502W微板法96样, 可溶性糖含量试剂盒货号为G0501W微板法96样, 蔗糖含量试剂盒货号为G0531W微板法96样)。

1.2.3 RNA提取和纯化 利用植物总RNA提取试剂盒(南京卡罗登生物科技有限公司)提取样品中的总RNA, 并对RNA进行电泳和分光光度计检测。电泳检测: 用DEPC水配制 $1\times$ TAE电泳缓冲液, 制作2%琼脂糖凝胶, 120 V电泳检测, 观察RNA条带是否降解; 分光光度计检测: 取 $2\mu\text{L}$ RNA溶液, 用NanoDrop 2000核酸蛋白检测仪检测RNA浓度及纯度, RNA浓度 $\geq 300\text{ ng}/\mu\text{L}$, $D_{260/280}=2.0\sim 2.2$, $D_{260/230}\geq 1.0$, 表示RNA质量合格, 可以用于后续实验^[29]。

1.2.4 文库构建、测序及差异分析 由北京诺禾致源生物科技有限公司对样品进行流程化的处理, 样品合格后在Nova-seq 6000测序仪上进行双末端测序。对下机的raw reads利用fastp^[30]进行质控, 过滤

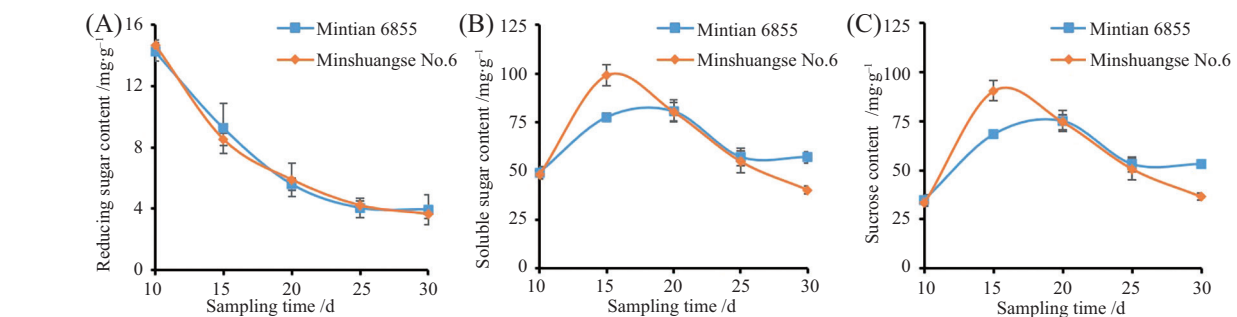
低质量数据得到Clean Date。将得到的Clean Date使用TopHat version 2.0.10与玉米参考基因组B73比对, 进行基因表达量计算, 获得基因FPKM(fragments per kilobase of transcript per million mapped reads)值, 利用edgeR软件包筛选差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。在筛选差异表达基因时, 以 $P<0.05$ 且差异倍数(fold change) ≥ 2 作为差异标准^[29]。

1.2.5 数据分析 样品间主成分分析(principal component analysis, PCA)和KEGG注释分析均在基迪奥云分析平台(<https://www.omicsshare.com/tools/Home/Soft/diffanalysis>)进行, 分析使用的注释文件从<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>网站下载。韦恩分析和表达聚类分析根据对应基因的FPKM进行计算, 并利用TBtools软件进行图表绘制^[29]。

2 结果

2.1 超甜玉米籽粒中还原糖、可溶性糖和蔗糖含量变化

为了探究甜玉米主要风味物质成分还原糖、可溶性糖和蔗糖在籽粒形成过程中的变化趋势, 分别在授粉10、15、20、25、30天对两个超甜玉米品种闽甜6855和闽双色6号籽粒中的还原糖、可溶性糖和蔗糖含量进行测定。结果显示, 还原糖和可溶性糖、蔗糖的变化趋势存在差异, 但品种间同一种糖的变化趋势差异不显著(图1)。其中还原糖含量在授粉后10天含量最高, 约 15 mg/g , 此后逐渐下降, 30天后, 还原糖含量降到约 4 mg/g (图1A)。可溶性糖含量变化呈现先升高后降低的趋势, 闽双色6号在授粉后15天左右达到最高值, 可溶性糖含量约为 100 mg/g , 随后逐渐降低, 第30天时约为 40 mg/g ; 闽甜6855在15~20天之间可



A: 还原糖含量; B: 可溶性糖含量; C: 蔗糖含量。

A: reducing sugar content; B: soluble sugar content; C: sucrose content.

图1 超甜玉米籽粒发育过程中还原糖、可溶性糖和蔗糖含量变化

Fig.1 Variations of reducing sugar, soluble sugar and sucrose content during super sweet corn kernel development

溶性糖含量最高约为75 mg/g, 随后下降, 授粉25天后含量趋于稳定, 约为50 mg/g。蔗糖含量变化也呈现先升高后降低的趋势, 闽双色6号的蔗糖含量在授粉后15天左右达到最高值, 约为90 mg/g, 随后逐渐降低, 第30天时约为36 mg/g; 而闽甜6855在15~20天之间蔗糖含量最高为75 mg/g, 授粉25天后含量趋于稳定, 约为53 mg/g。综上所述, 两个超甜玉米品种间还原糖含量变化基本一致, 蔗糖和可溶性糖含量变化存在差异。

2.2 超甜玉米籽粒转录组表达的PCA分析

为了进一步探究玉米籽粒在不同发育时期的基因表达变化, 对不同时期闽甜6855和闽双色6号籽粒转录组表达数据进行PCA分析。结果显示, 闽双色6号和闽甜6855的PC1主成分贡献率较高, 分别为87.6%和85.0%, PC2贡献率分别为8.2%和13.0%, PC1和PC2总贡献率超过95.0%, 表明该PCA图可很好解析样品间的相互关系(图2)。从样品分布上, 不论是闽双色6号或是闽甜6855, 在授粉后10天的样本可以明显与其他时间点样本区分, 而授粉后15~30天之间的时间点, 样本区分度不大, 尤其在PC1向量上。这些结果表明, 授粉后10天时的籽粒发育与15天后的籽粒发育模式存在显著差异, 而之后(授粉15~30天)籽粒发育模式接近或基本相同, 推测糖类物质的形成和积累主要在15天之后。因此, 后续的基因表达差异分析以授粉10天的样本为对照组。

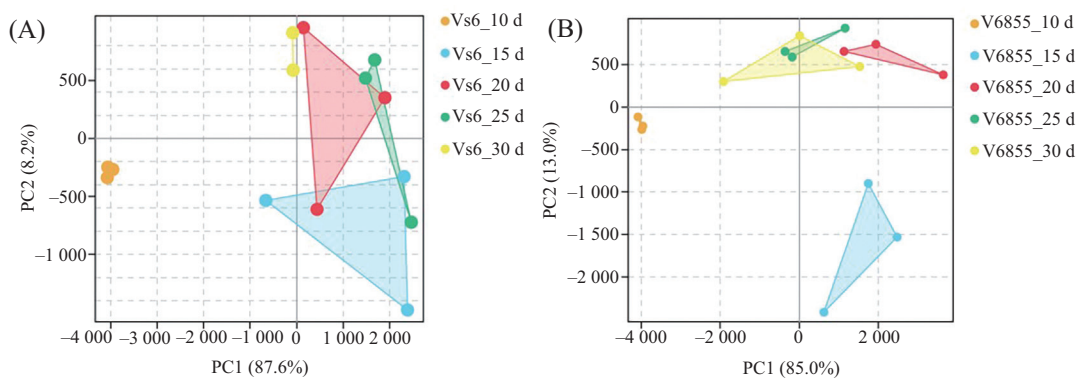
2.3 超甜玉米籽粒在不同发育阶段的基因表达情况分析

为了从宏观上了解玉米籽粒在不同发育阶段的

基因表达情况, 我们对不同阶段玉米籽粒的基因表达情况进行了对比分析。结果显示, 两个品种在授粉后10天的基因表达情况与其他时间点差异显著(图3A和图3B)。其中, 闽双色6号授粉后15~30天和10天上调和下调表达基因数目分别在968~1 380和3 756~5 559之间; 而闽甜6855授粉后15~30天和10天上调和下调表达基因数目分别在719~1 285和2 788~5 953之间。此外, 结果还显示, 授粉后15~30天不同阶段上调或下调差异基因数目均在1 000个以下, 其中闽双色6号20天vs 25天(c-vs-d)两个时间点差异最小, 上调和下调基因数仅分别为33和19个; 而闽甜6855中25天vs 30天(d-vs-e)两个时间点差异最小, 上调和下调基因数分别为28和37个。以上结果表明, 授粉10天到15天之间基因表达模式有较大变异, 推测该时间点是甜玉米发育阶段转换的关键时期。此外, 韦恩分析结果显示, 与授粉10天相比, 闽双色6号和闽甜6855分别有2 955个(图3B)和2 351个(图3D)基因在授粉后15~30天持续上调或下调表达, 暗示这些基因在发育阶段转化后的发育进程中起重要调控作用。

2.4 超甜玉米全基因组糖代谢途径相关基因统计分析

为了深入挖掘影响糖代谢的关键基因, 利用玉米B73参考基因组注释文件, 对参与淀粉和蔗糖代谢(starch and sucrose metabolism)途径的酶的编码基因进行统计分析。结果显示, 在全基因组上共注释了27种酶的编码基因, 这些基因共221个(图4)。其中, 有3种酶的编码基因仅有1个, 分别为 α -海藻糖

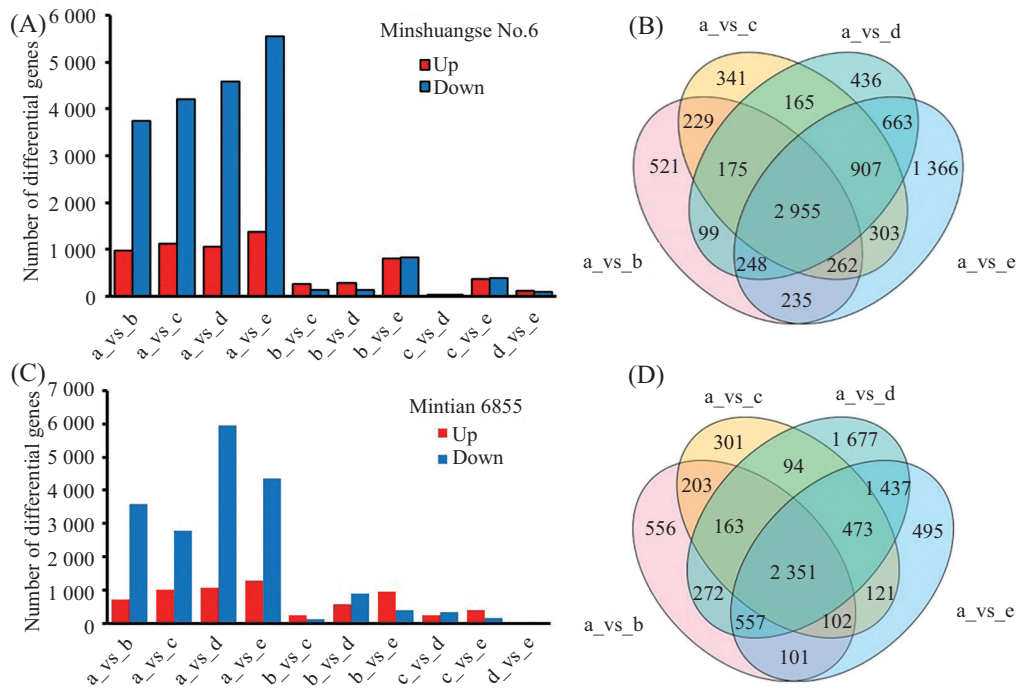


A: 闽双色6号在不同时间点的基因表达PCA分析; B: 闽甜6855在不同时间点基因表达PCA分析。Vs6: 闽双色6号; V6855: 闽甜6855; 10 d、15 d、20 d、25 d和30 d分别表示授粉后10天、15天、20天、25天和30天的超甜玉米籽粒基因表达情况。

A: PCA analysis of gene expression of Minshuangse No.6 at different time points; B: PCA analysis of gene expression of Mintian 6855 at different time points. Vs6: Minshuangse No.6; V6855: Mintian 6855; 10 d, 15 d, 20 d, 25 d and 30 d represent the gene expression of super sweet corn kernels at 10, 15, 20, 25 and 30 days after pollination, respectively.

图2 闽双色6号和闽甜6855转录组表达的PCA分析

Fig.2 PCA analysis of the transcriptome expression in Minshuangse No.6 and Mintian 6855



A: 不同发育阶段闽双色6号的基因差异表达数据; B: 不同发育阶段闽双色6号的差异表达基因的韦恩分析; C: 不同发育阶段闽甜6855的基因差异表达数据; D: 不同发育阶段闽甜6855的差异表达基因的韦恩分析; a~e分别表示授粉后10天、15天、20天、25天和30天的超甜玉米籽粒的基因表达情况。

A: the differential expression data of Minshuangse No.6 at different developmental stages; B: Venn analysis of differentially expressed genes of Minshuangse No.6 at different developmental stages; C: the differential expression data of Mintian 6855 at different developmental stages; D: Venn analysis of differentially expressed genes of Mintian 6855 at different developmental stages; a-e represent the gene expression of super sweet corn kernels at 10, 15, 20, 25 and 30 days after pollination, respectively.

图3 不同发育阶段超甜玉米籽粒的基因表达比较分析

Fig.3 Comparative analysis of gene expression in different developmental stages of super sweet corn

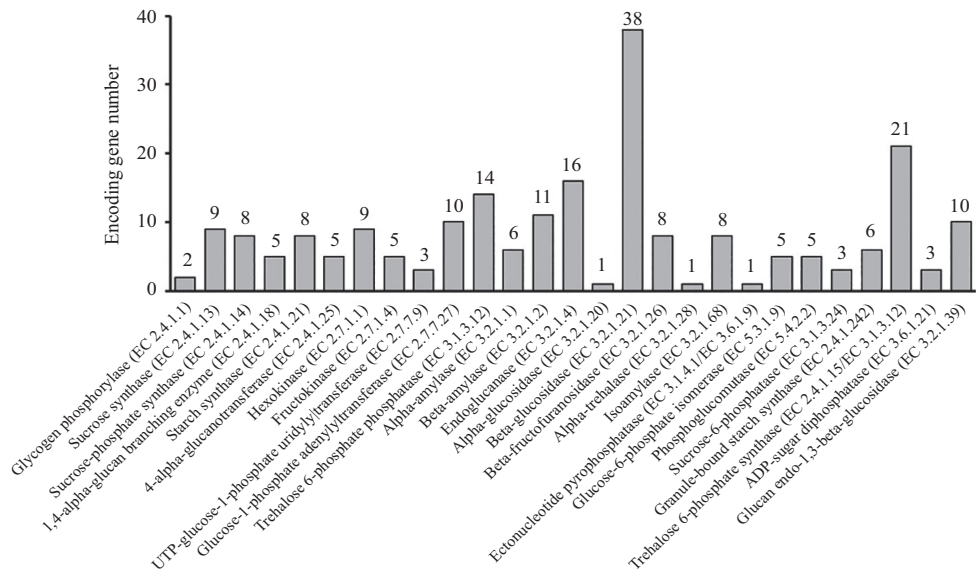


图4 超甜玉米中糖代谢相关基因的注释分析

Fig.4 Annotation analysis of genes related to sugar metabolism in super sweet corn

酶(EC 3.2.1.28)、 α -葡糖苷酶(EC 3.2.1.20)和外核苷酸焦磷酸酶(EC 3.1.4.1/EC 3.6.1.9); β -葡糖苷酶(EC 3.2.1.21)编码基因最多, 达38个。以上这些基因构成

玉米籽粒中淀粉和蔗糖代谢的物质基础。但结果也显示, 多数酶存在多个编码基因, 推测其中可能存在大量无功能或冗余基因, 即并非所有基因在淀粉和

蔗糖代谢过程中均发挥功能,因此需对其中的功能基因或关键基因进行进一步鉴定。

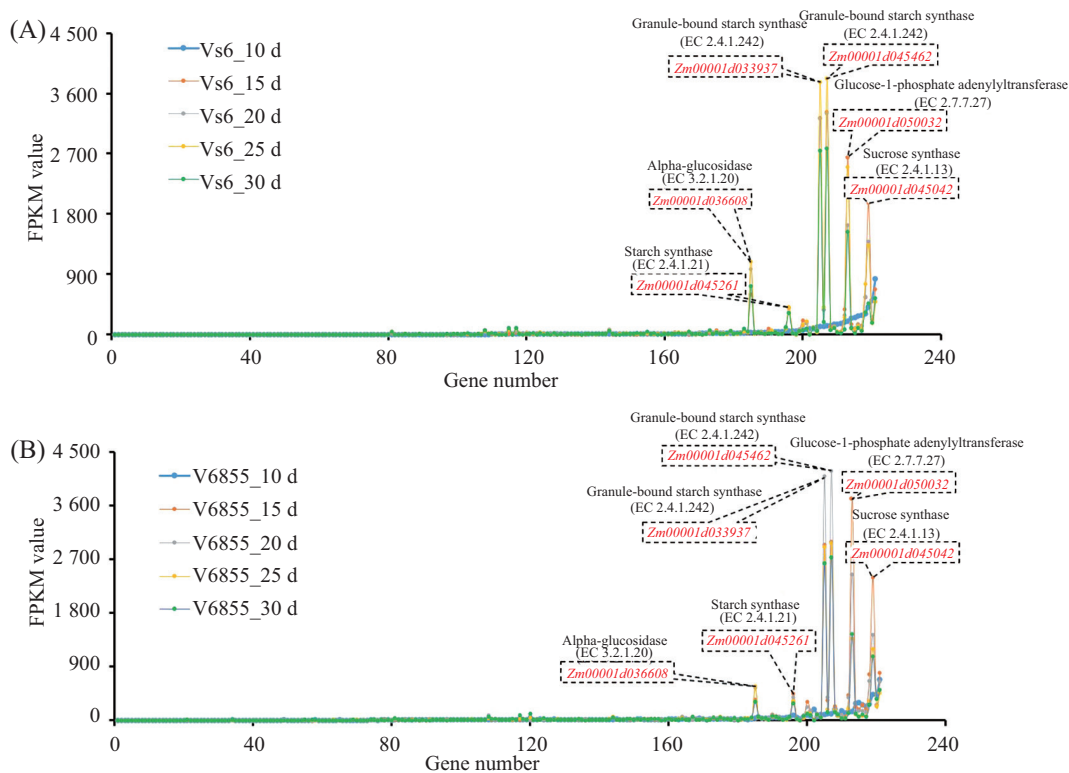
2.5 调控超甜玉米籽粒糖代谢关键基因的鉴定

为了挖掘超甜玉米籽粒发育过程中糖代谢关键调控基因,以授粉10天的籽粒糖代谢相关基因的表达量为参照,将玉米中221个淀粉和蔗糖代谢通路相关基因的表达量从小到大排序,对比不同发育阶段关键调控基因的表达量变化。结果显示,绝大部分注释基因在籽粒发育过程中不表达或低表达,表明大部分基因在糖代谢过程中不起作用(图5)。有6个注释基因在授粉后15天持续高表达,分别是编码淀粉合成酶(EC 2.4.1.21)的基因 *Zm00001d045261*, 编码 α -葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.20)的基因 *Zm00001d036608*, 编码颗粒结合型淀粉合成酶(EC 2.4.1.242)的基因 *Zm00001d033937*和 *Zm00001d045462*, 编码葡萄糖-1-磷酸腺苷酰基转移酶(EC 2.7.7.27)的基因 *Zm00001d050032*及编码蔗糖合酶(EC 2.4.1.13)的基因 *Zm00001d045042*, 初步判断该6个编码基因在糖代谢过程中起关键调控作用,对

甜玉米品质形成具有重要作用。此外,结果还显示两个超甜玉米品种间的这些基因表达趋势近似(图5),暗示这6个基因为甜玉米所共有,并非个例。

2.6 超甜玉米籽粒中糖代谢关键调控基因的表达模式分析

为进一步明确玉米籽粒中糖代谢关键调控基因的表达模式,对上述6个关键基因在籽粒发育过程中的表达模式进行进一步分析。结果显示,这6个糖代谢关键基因在授粉后10天前表达量均较低,但从15天开始,表达量均急剧上升,提高倍数最高达40倍以上(图6)。从变化规律上,两个编码颗粒结合型淀粉合成酶的基因 *Zm00001d033937*和 *Zm00001d045462*的表达模式几乎一致,同时它们与编码淀粉合成酶的基因 *Zm00001d045261*的变化趋势相似(图6A、图6C和图6F),暗示这3个基因的调控作用一致或相似,并且在授粉15天后这3个基因的表达一直维持在较高水平,表明在整个甜玉米籽粒发育过程中这两种酶的活性很高。此外,编码葡萄糖-1-磷酸腺苷酰基转移酶的基因 *Zm00001d050032*

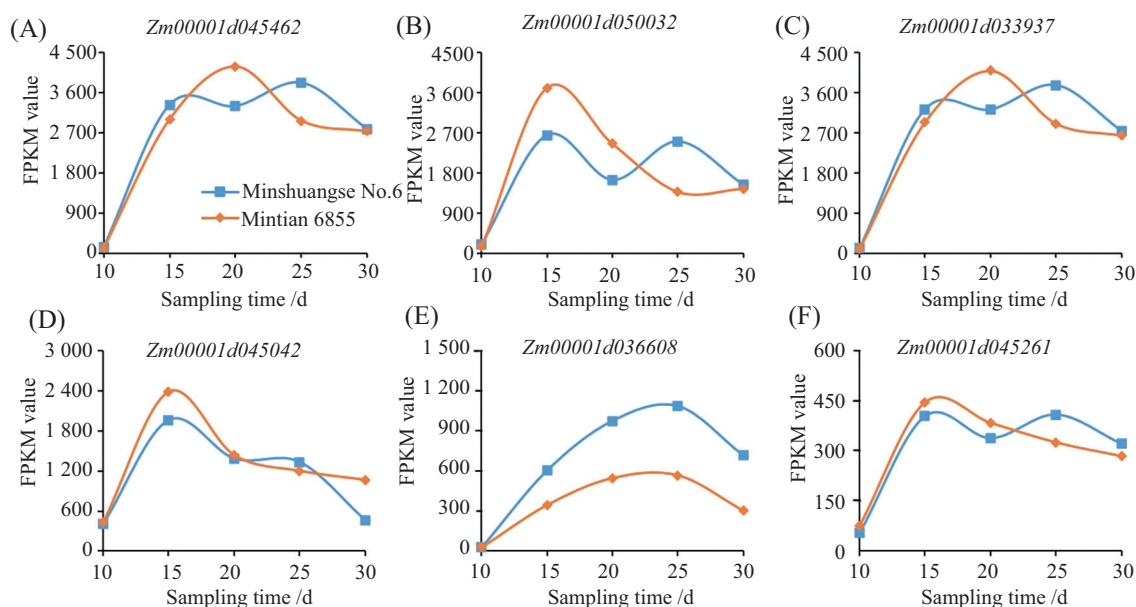


A: 闽双色6号; B: 闽甜6855。Vs6: 闽双色6号; V6855: 闽甜6855; 10 d、15 d、20 d、25 d和30 d分别表示授粉后10天、15天、20天、25天和30天的超甜玉米籽粒中淀粉和蔗糖代谢相关基因的表达情况。

A: Minshuangse No.6; B: Mintian 6855. Vs6: Minshuangse No.6; V6855: Mintian 6855; 10 d, 15 d, 20 d, 25 d and 30 d represent the expression of genes related to starch and sucrose metabolism in super sweet corn kernels at 10, 15, 20, 25 and 30 days after pollination, respectively.

图5 超甜玉米中淀粉和蔗糖代谢相关基因的表达分析

Fig.5 Expression analysis of genes related to starch and sucrose metabolism in super sweet corn



A~F: *Zm00001d045462*、*Zm00001d050032*、*Zm00001d033937*、*Zm00001d045042*、*Zm00001d036608*和*Zm00001d045261*在闽双色6号和闽甜6855中的表达变化。

A~F: the expression variations of *Zm00001d045462*, *Zm00001d050032*, *Zm00001d033937*, *Zm00001d045042*, *Zm00001d036608* and *Zm00001d045261* in Minshuangse No.6 and Mintian 6855, respectively.

图6 超甜玉米籽粒中糖代谢关键调控基因的表达模式分析

Fig.6 Analysis of expression patterns of key genes regulating sugar metabolism in super sweet corn kernel

及编码蔗糖合酶的基因 *Zm00001d045042* 的表达趋势相似, 在授粉后15天表达量达到峰值, 随后逐步下降, 表明这两种酶主要在中前期发挥功能(图6B和图6D)。编码 α -葡糖苷酶的基因 *Zm00001d036608* 的表达模式与其他几个基因不同, 其在授粉后表达量逐渐升高, 至中后期(25天左右)达到峰值, 随后开始下降(图6E), 表明 α -葡糖苷酶主要在中后期发挥功能。

3 讨论

鲜食甜玉米富含淀粉、蛋白、氨基酸、维生素和可溶性糖等多种营养物质^[31]。玉米籽粒中的淀粉和可溶性糖是决定甜玉米风味的主要物质成分, 其中淀粉组成与玉米糯性相关, 可溶性糖含量与玉米甜度相关。然而, 淀粉和糖之间是可相互转换的, 在玉米籽粒发育过程中淀粉和糖的含量是动态变化的。可溶性糖是甜玉米的主要风味决定物质, 探索不同时期籽粒中可溶性糖含量变化, 可为鲜食甜玉米最适采收期的确定提供依据。闽甜6855和闽双色6号均为福建省农业科学院培育的超甜玉米品种, 采收期一般在授粉后20~25天。本研究对不同授粉时期蔗糖和可溶性糖含量进行测定结果发现, 闽甜6855和闽双色6号中蔗糖和可溶性糖含量变化趋势

存在显著差异。例如, 闽双色6号在授粉后15天左右可溶性糖含量达到最高, 随后随着时间推移逐渐降低, 而闽甜6855在授粉后25天可溶性糖含量才趋于稳定, 这与程新奇等^[32]的研究结果一致。闽甜6855和闽双色6号中的蔗糖含量的变化趋势基本与可溶性糖含量变化趋势一致, 印证了于慧琳等^[9]的研究结果。因此, 闽双色6号在适采期应尽量采收, 延后收获可能会严重影响其甜度和口感, 而闽甜6855在其他品质性状变化不大的情况下, 因其风味变化不大, 可适当延迟采收。因此, 收获时应综合考虑风味、产量和市场行情等诸多方面因素, 以获得最高的经济效益。

甜玉米形成的本质主要是淀粉和糖的代谢或转化过程中部分基因发生突变, 导致其所编码的酶丧失活性, 造成淀粉合成或分解异常, 而可溶性糖(如蔗糖等)的含量升高。目前已经发现对甜玉米形成具有关键作用的酶有3种, 分别是蔗糖转化酶(β -D-呋喃果糖苷水解酶, EC 3.2.1.26, Inv), 蔗糖合酶(EC 2.4.1.13, SuS)和蔗糖磷酸合成酶(EC 2.3.1.14, SPS)^[33-34], 已报道的相关基因包括 *Ivr1-2*、*Incw1-4*、*Sh1*、*Sus1*和*Sus2(Sus3)*等^[35-38], 并且其中部分基因在甜玉米育种中已被广泛应用。本研究共鉴定出

6个糖代谢相关的关键基因, 其中部分基因与已报道的基因相同。例如, 本研究中鉴定出的关键基因 *Zm00001d045042* 为已报道的 *Sh1* 基因^[39], 编码颗粒结合型淀粉合成酶的基因 *Zm00001d045462* 为 *waxy* 基因^[40], 这些结果均表明本研究结果具有较强的可靠性。然而, 尽管基因表达分析揭示这些基因可能在甜玉米籽粒发育过程中起关键调控作用, 但离育种应用还有很长的路。因此, 深入鉴定这些基因在现有种质及品种中的遗传变异和功能, 可为后续的甜玉米品质遗传改良提供基因资源。

4 结论

在两个甜玉米品种籽粒发育过程中, 还原糖含量均呈现逐渐下降趋势, 可溶性糖和蔗糖含量变化呈现先升高后降低的趋势。本研究最终鉴定出6个糖代谢相关的关键调控基因, 它们分别是编码颗粒结合型淀粉合成酶的基因 *Zm00001d033937* 和 *Zm00001d045462*, 编码淀粉合成酶的基因 *Zm00001d045261*, 编码葡萄糖-1-磷酸腺苷酰基转移酶的基因 *Zm00001d050032*, 编码蔗糖合酶的基因 *Zm00001d045042* 及编码 α -葡萄糖苷酶的基因 *Zm00001d036608*, 部分基因与已报道的糖代谢关键调控基因一致。本研究结果为鲜食甜玉米分子育种提供了优异基因资源。

参考文献 (References)

- [1] 洪昌涛, 蔡琦玲, 吴源生. 甜玉米高产栽培技术[J]. 农村实用技术(HONG C T, CAI Q L, WU Y S. High yield cultivation technology of sweet corn [J]. Rural Practical Technology), 2020(3): 2.
- [2] 赵福成, 景立权, 陆大雷, 等. 超甜玉米籽粒糖分积累和蔗糖代谢酶活性动态变化[J]. 核农学报(ZHAO F C, JING L Q, LU D L, et al. Dynamic changes of sugar accumulation and sucrose metabolism enzyme activities in super sweet maize [J]. Journal of Nuclear Agronomy), 2014, doi: 10.11869/j.issn.100-8551.2014.12.2230.
- [3] 林静, 张扬, 林建新, 等. 超甜玉米闽双色6号籽粒甜度遗传基础解析[J]. 福建农业学报(LIN J, ZHANG Y, LIN J X, et al. Genetic basis of grain sweetness of super sweet corn Minshuangse NO.6 [J]. Fujian Agricultural Journal), 2022, 37(7): 7.
- [4] 王家腾. 闽甜6855甜玉米春季高产栽培技术要点[J]. 世界热带农业信息(WANG J T. Key points of high-yield cultivation techniques of Mintian 6855 sweet maize in spring [J]. Information of World Tropical Agriculture), 2022(11): 2.
- [5] 杨泉女, 王蕴波. 甜玉米胚乳突变基因的研究进展及其在育种中应用的策略[J]. 分子植物育种(YANG Q N, WANG Y B. Research progress of endosperm mutant genes in sweet maize and its application strategies in breeding [J]. Molecular Plant Breed-
- [6] 郭尚敬. 玉米种子发育过程中淀粉的积累及直链淀粉合成关键酶基因的分离与表达[D]. 泰安: 山东农业大学, 2000.
- [7] 李坤, 李高科, 肖颖妮, 等. 甜玉米品质遗传改良研究进展[J]. 广东农业科学(LI K, LI G K, XIAO Y N, et al. Research progress on genetic improvement of sweet maize quality [J]. Guangdong Agricultural Sciences), 2020, 47(11): 8.
- [8] 郑大浩, 李艳茹, 郭彦. 甜玉米遗传育种研究进展[J]. 延边大学农学学报(ZHENG D H, LI Y R, GUO Y. Advances in genetic breeding of sweet maize [J]. Journal of Agronomy, Yanbian University), 2003, 25(3): 5.
- [9] 于惠琳, 吴玉群, 胡宝忱, 等. 超甜玉米系与其野生型玉米系籽粒发育过程中糖分积累规律[J]. 辽宁农业科学(YU H L, WU Y Q, HU B C, et al. Study on sugar accumulation of super sweet maize and wild maize [J]. Liaoning Agricultural Sciences), 2019(3): 3.
- [10] 王世恒, 冯凤琴, 徐仁政. 超甜玉米营养品质分析[J]. 玉米科学(WANG S H, FENG F Q, XU R Z. Analysis of nutritive quality of super sweet maize [J]. Maize Science), 2004, 12(1): 61-2.
- [11] 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(CUI Y H, ZHOU H, LI B H. Grain nutritional quality and its influencing factors of Sweet maize [J]. Journal of Agricultural University of Hebei), 1996(4): 99-104.
- [12] 翟广谦, 陈永星, 田福海. 甜糯玉米鲜食期品质变化及保鲜技术研究[J]. 山西农业科学(ZHAI G Q, CHEN Y X, TIAN F H. Study on quality change and preservation technology of sweet waxy corn during fresh eating period [J]. Shanxi Agricultural Sciences), 1997, 25(1): 24-7.
- [13] 石德权. 玉米高产新技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2008.
- [14] 卢柏山, 董会, 徐丽, 等. 甜玉米不同采收期籽粒品质性状研究[J]. 中国农学通报(LU B S, DONG H, XU L, et al. Study on grain quality characters of sweet maize in different harvesting periods [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin), 2020, 36(24): 6.
- [15] 卢柏山, 董会, 徐丽, 等. 甜玉米籽粒不同采收期含水量与物性品质的相关性[J]. 华北农学报(LU B S, DONG H, XU L, et al. Correlation between water content and physical quality of sweet maize at different harvesting stages [J]. Journal of North China Agricultural Sciences), 2019, 34(S01): 9.
- [16] 任梦云, 杜龙岗, 王美兴, 等. 甜玉米可溶性糖组分特征及其采收后降解规律分析[J]. 分子植物育种(REN M Y, DU L G, WANG M X, et al. Characteristics of soluble sugars in sweet maize and analysis of their degradation in postharvest [J]. Molecular Plant Breeding), 2022, 20(16): 7.
- [17] 李淑俊. 植物体内蔗糖与淀粉的转化[J]. 植物生理学通讯(LI S J. The conversion of sucrose and starch in plants [J]. Plant Physiology Communication), 1958(5): 3-10.
- [18] 徐臣善, 徐爱红, 萧蓓蕾, 等. 授粉品种对红富士苹果果实糖积累及其代谢相关酶活性的影响[J]. 江苏农业学报(XU C S, XU A H, XIAO B L, et al. Effects of pollinated varieties on sugar accumulation and metabolism related enzyme activities of Red Fuji apple [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences), 2021, 37(1): 121-8.
- [19] 靳亚忠, 陈业雯, 龙闪闪, 等. 鸡粪的施用对薄皮甜瓜果实糖积累及糖代谢相关酶活性的影响[J]. 核农学报(JIN Y Z, CHEN Y W, LONG S S, et al. Effects of application of chicken manure on sugar accumulation and enzyme activities related to sugar metab-

- olism in Muskmelon Fruits [J]. Journal of Nuclear Agriculture), 2020(5): 7.
- [20] 于雷. LED补光对日光温室薄皮甜瓜糖和 β -胡萝卜素积累的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.
- [21] 张中霞, 刘艳, 白立华, 等. 河套蜜瓜果实发育过程中糖积累与蔗糖代谢相关酶的关系[J]. 西北植物学报(ZHANG Z X, LIU Y, BAI L H, et al. Relationship between sugar accumulation and sucrose metabolism related enzymes in Hetao honeydew fruit development [J]. Acta Botanica Sinica Northwest China), 2011, 31(1): 123-9.
- [22] NGUYEN-QUOC B, FOYER C H. A role for 'futile cycles' involving invertase and sucrose synthase in sucrose metabolism of tomato fruit [J]. J Exp Bot, 2001, 52(358): 881-9.
- [23] 董飞, 王传增, 任煜倩, 等. 光质对番茄果实中糖含量和代谢相关酶及基因表达的影响[J]. 植物生理学报(DONG F, WANG C Z, REN Y Q, et al. Effects of light quality on sugar content and metabolism related enzymes and gene expression in tomato fruits [J]. Plant Physiology Journal), 2018, 54(9): 9.
- [24] 陈炜, 李红兵, 邓西平. 不同栽培模式下冬小麦灌浆过程中旗叶蔗糖代谢和籽粒淀粉积累特性[J]. 西北农业学报(CHEN W, LI H B, DENG X P. Characteristics of sucrose metabolism in flag leaves and starch accumulation in grain during filling of winter wheat under different cultivation modes [J]. Northwest Agricultural Journal), 2018, 27(5): 9.
- [25] 李孟洁. 小麦灌浆期籽粒淀粉合成及淀粉合成关键酶活性对水氮条件的响应[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2015.
- [26] 张海艳, 董树亭, 高荣岐, 等. 不同类型玉米发育籽粒中淀粉合成及相关酶活性比较[J]. 植物生理与分子生物学学报(ZHANG H Y, DONG S T, GAO R Q, et al. Comparison of starch synthesis and related enzyme activities in different types of maize [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology), 2007, 33(1): 25-32.
- [27] 陈江, 王燕, 黄斌全, 等. 不同类型玉米籽粒淀粉积累、相关酶活及基因表达差异分析[J]. 核农学报(CHEN J, WANG Y, HUANG B Q, et al. Analysis on the difference of starch accumulation, enzyme activity and gene expression in different types of maize [J]. Journal of Nuclear Agriculture), 2012, 26(2): 217-30.
- [28] 崔丽娜, 许珍, 董树亭. 施钾对夏玉米籽粒发育过程中糖代谢相关酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报(CUI L N, XU Z, DONG S T. Effects of potassium application on enzyme activities related to glucose metabolism during seed development of summer maize [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science), 2011, 17(4): 869-80.
- [29] 林静, 林建新, 张扬, 等. 利用转录组解析鲜食玉米闽甜 6855 的耐寒机制[J]. 华北农学报(LIN J, LIN J X, ZHANG Y, et al. Transcriptome analysis of cold tolerance mechanism of fresh food maize Mintian 6855 [J]. Journal of North China Agricultural Sciences), 2022, 37(5): 8.
- [30] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i90.
- [31] 修琳, 刘景圣, 蔡丹, 等. 鲜玉米中可溶性糖含量的测定[J]. 食品科学(XIU L, LIU J S, CAI D, et al. Determination of soluble sugar content in fresh maize [J]. Food Science), 2011, 32(4): 3.
- [32] 程新奇, 王文龙, 罗永兰, 等. 甜玉米籽粒发育糖分积累差异的研究[J]. 湖南文理学院学报(自然科学版)(CHENG X Q, WANG W L, LUO Y L, et al. Study on differences of sugar accumulation in grain development of sweet maize [J]. Journal of Hunan University of Arts and Sciences, Natural Science Edition), 2002, 14(4): 70-2.
- [33] HUBER S C, HUBER J L. Role and regulation of sucrose-phosphate synthase in higher plants [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1996, 47: 431-44.
- [34] STURM A, TANG G Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning [J]. Trends Plant Sci, 1999, 4(10): 401-7.
- [35] KIM J Y, MAHE A, GUY S, et al. Characterization of two members of the maize gene family, *Incw3* and *Incw4*, encoding cell-wall invertases[J]. Gene, 2000, 245: 89-102.
- [36] WERR W, FROMMER W B, MAAS C, et al. Structure of the sucrose synthase gene on chromosome 9 of *Zea mays* L [J]. EMBO J, 1985, 4: 1373-80.
- [37] GUPTA M, CHOUREY P S, BURR B, et al. cDNAs of two non-allelic sucrose synthase genes in maize: cloning, expression, characterization and molecular mapping of the sucrose synthase-2 gene [J]. Plant Mol Biol, 1988, 10(3): 215-24.
- [38] CARLSON S J, CHOUREY P S, HELENTJARIS T, et al. Gene expression studies on developing kernels of maize sucrose synthase (SuSy) mutants show evidence for a third SuSy gene [J]. Plant Mol Biol, 2002, 49(1): 15-29.
- [39] WERR W, FROMMER W B, MAAS C, et al. Structure of the sucrose synthase gene on chromosome 9 of *Zea mays* L [J]. EMBO J, 1985, 4(6): 1373-80.
- [40] BAO J D, YAO J Q, ZHU J Q, et al. Identification of glutinous maize landraces and inbred lines with altered transcription of waxy gene [J]. Mol Breeding, 2012, 30(4): 1707-14.