

不同萝卜品种淀粉酶活性的差异研究

任喜波, 戴希尧, 张俊花, 王鹏, 姚太梅, 刘畅

(河北北方学院 园艺系, 河北 宣化 075131)

摘要:以25个萝卜品系和组合为试材,采用田间随机区组设计,肉质根采收后采用3,5-二硝基水杨酸法测定萝卜 α , β -淀粉酶活性及总酶活性,探讨不同萝卜 α , β -淀粉酶活性及总酶活性的差异并建立 α , β -淀粉酶及总淀粉酶活性之间的关系。结果表明:萝卜不同品种和组合的 α , β -淀粉酶活性及总淀粉酶活性差异显著,其中A04、S01、A17、A20、S05和A07的 α -淀粉酶活性较高; β -淀粉酶活性及总淀粉酶活性较高的品系同为A19、A06、A17、A12和S03。 α -淀粉酶活性占总酶活性的比例为8.11%~25.57%, β -淀粉酶活性为75.26%~91.89%,三者之间关系为 $Y_{\text{总淀粉酶活性}} = -0.029 + 1.039X_{\alpha\text{-淀粉酶活性}} + 0.998X_{\beta\text{-淀粉酶活性}}$ 。

关键词:萝卜;淀粉酶;品种

中图分类号:S 631.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)22-0021-03

萝卜属十字花科萝卜属1、2a生草本植物,又名莱菔、芦菔,是重要的世界性蔬菜。由于其生长适应性强,产量高,肉质根营养成分含量丰富,在中国、日本、韩国以及东南亚一些国家广泛种植^[1]。萝卜富含淀粉酶(不是淀粉)是一种超低热量的蔬菜。由于其含丰富

第一作者简介:任喜波(1978-),女,博士,副教授,研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail:renxibo@163.com。

基金项目:河北省教育厅自然科学基金资助项目(Z2009303);河北北方学院资助项目(2001002)。

收稿日期:2012-07-23

[5] 杨霄乾,靳亚忠,何淑平. NaCl盐胁迫对番茄种子萌发的影响[J]. 北方园艺,2008(11):24-26.

粉酶,因此对胃部粘膜的修复具有很好的促进作用,能够防止胃酸过多、胃炎及胃溃疡,同时能够增强消化机能。因此,萝卜一直以来都被认为是有助消化的食品。但是有关萝卜淀粉酶的研究甚少,因此,该试验以不同萝卜类型品系及组合为试材,对不同萝卜品种淀粉酶活性进行比较研究,为进一步开展萝卜淀粉酶纯化和理化性质研究及高淀粉酶活性品种选育提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试25个萝卜品种及组合为S01、S02、S03、S04、

[6] 杨秀玲,郁继华,李雅佳,等. NaCl 胁迫对黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 甘肃农业大学学报,2004,39(1):6-9.

Effect of Different Concentrations of Seawater on Seed Germination of Vegetables

HE Li-hong, LAN Xia, YU Tu-yuan, LIN Huan-bo, JIANG Jun-ying, CHEN Min-tao

(College of Life Science, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225)

Abstract: The germination characteristic under different concentrations seawater-stress in seven kinds of Guangdong vegetable seeds were studied in this paper. The results showed that the seed germination rate declined with the increasing of the seawater concentrations, the seed germination was inhibited obviously under 50%, 60% seawater-stress and indicated the salt tolerance of vegetable germination was limited. Difference of decline degree illustrated the different salt tolerance, some seeds had strong salt tolerance, such as Chinese cabbage and flowering Chinese cabbage while salt tolerance ability of Italian lettuce was weak. The results would bring important guiding significance in selecting salt-tolerance varieties of vegetables and use of seawater for irrigation.

Key words: vegetables; different concentrations seawater; seed germination

S05 及 A1~A20。试剂为麦芽糖、3,5-二硝基水杨酸、NaOH、酒石酸钾钠、柠檬酸、柠檬酸钠和淀粉等,购于上海源叶生物科技有限公司,均为分析纯。试验仪器有752N紫外可见分光光度计(上海精科),电热恒温水温箱SSW-600-2S(上海精科)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 田间试验于2010年7月中旬播种,采用随机区组设计,3次重复,共75个小区,小区面积约4 m²,株行距为40 cm×50 cm,常规管理。于采收期每个小区随机选取3个萝卜,不同部位取样混合后作为1个样品,重复2次。

1.2.2 试剂配制 标准麦芽糖溶液(1 mg/mL):精确称取100 mg麦芽糖,用蒸馏水溶解并定容至100 mL;3,5-二硝基水杨酸试剂:精确称取1 g 3,5-二硝基水杨酸,溶于20 mL 2 mol/L NaOH溶液中,加入50 mL蒸馏水,再加入30 g酒石酸钾钠,待溶解后用蒸馏水定容至100 mL。盖紧瓶塞,勿使CO₂进入;0.1 mol/L pH 5.6的柠檬酸缓冲液:A液(0.1 mol/L 柠檬酸):称取C₆H₈O₇·H₂O 21.01 g,用蒸馏水溶解至1 L。B液(0.1 mol/L 柠檬酸钠):称取Na₃C₆H₅O₇·2H₂O 29.41 g用蒸馏水定容至1 L。取A液55 mL与B液145 mL混匀,即为0.1 mol/L pH 5.6的柠檬酸缓冲液;1%淀粉溶液:称取1 g淀粉溶于100 mL 0.1 mol/L pH 5.6的柠檬酸缓冲液中。

1.2.3 样品制备 称取1 g左右萝卜肉质根置于研钵中,加少量石英砂和2 mL蒸馏水,研磨匀浆。将匀浆倒入离心管中,用6 mL蒸馏水分次将残渣洗入离心管。提取液在室温下放置提取15~20 min,每隔数分钟搅动1次,使其充分提取。然后在3 000 r/min转速下离心10 min,将上清液倒入100 mL容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,摇匀,即为淀粉酶原液。吸取上述淀粉酶原液10 mL,放入50 mL容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,摇匀,即为淀粉酶稀释液。

1.2.4 麦芽糖标准曲线的制作 精确称取100 mg麦芽糖,用蒸馏水溶解并定容至100 mL即为标准麦芽糖溶液(1 mg/mL);用移液器分别吸取0、0.2、0.6、1.0、1.4、1.8和2.0 mL的麦芽糖标准液分别放置干净的具塞刻度试管中,加蒸馏水至2.0 mL,混匀后分别加入2 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂,摇匀,置沸水浴中煮沸5 min。取出后流水冷却,加蒸馏水定容至20 mL。以1号管作为空白调零点,在540 nm波长下比色测定。

1.3 项目测定

利用3,5-二硝基水杨酸方法(DNS)测定萝卜肉质根的淀粉酶总活性、α-淀粉酶活性及β-淀粉酶活性^[1]。活力计量单位:麦芽糖(mg)/(g·5min)样品鲜重。

2 结果与分析

2.1 麦芽糖标准曲线

根据测定结果,采用Excel进行拟合,得拟合方程:
Y=0.3456x-0.0391。

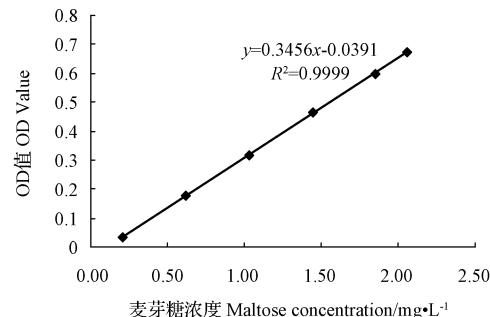


图1 麦芽糖标准曲线

Fig. 1 Standard curve of maltose

2.2 不同萝卜品种 α,β-淀粉酶活性及总酶活性的比较

由表1可知,不同萝卜品种和组合的α-淀粉酶活性、β-淀粉酶活性和总淀粉酶活性均达到了显著或极显著的水平。25个品系及组合中总淀粉酶活性的变异范围为麦芽糖43.65~86.70 mg/(g·5min),β-淀粉酶活性的变异范围为麦芽糖32.58~79.67 mg/(g·5min)。品种S03的总淀粉酶活性和β-淀粉酶活性均最高分别为

表1 不同萝卜品种淀粉酶活性测定值

Table 1 Measurement value of amylase activity in different radish varieties 麦芽糖 mg/(g·5min)

α-淀粉酶活性 α-amylase activity*	β-淀粉酶活性 β-amylase activity**	总淀粉酶活性 Total amylase activity**	α/(α+β)	
			/%	/%
S01	11.12	48.90	60.02	18.53
S02	7.88	46.26	54.14	14.55
S03	7.03	79.67	86.70	8.11
S04	7.95	37.70	45.65	17.42
S05	11.75	48.83	60.58	19.40
A01	9.08	49.74	58.82	15.45
A02	8.78	60.55	69.33	12.66
A03	10.28	43.40	53.68	19.15
A04	11.07	32.58	43.65	25.36
A05	6.91	65.75	72.66	9.51
A06	7.69	70.43	78.12	9.84
A07	12.01	51.33	63.34	18.96
A08	7.92	45.18	53.10	14.92
A09	6.86	66.87	73.73	9.30
A10	7.43	49.51	56.94	13.05
A11	6.39	55.43	61.82	10.34
A12	8.97	75.01	83.98	10.68
A13	10.56	36.38	46.94	22.50
A14	8.95	60.86	69.81	12.82
A15	7.05	45.55	52.60	13.40
A16	6.45	41.19	47.64	13.54
A17	11.41	74.71	86.12	13.25
A18	7.28	57.39	64.67	11.26
A19	8.77	69.59	78.36	11.19
A20	11.56	56.87	68.43	16.89

注: * 和 ** 分别表示在5%和1%水平显著。

Note: * and ** mean significance level at 5% and 1% respectively.

麦芽糖 86.70 和 79.67 mg/(g·5min), 其后品种依次为 A12、A17、A06 和 A19, 而品种 A04 总淀粉酶活性和 β -淀粉酶活性均最低。

α -淀粉酶活性的变异范围为麦芽糖 6.39~12.01 mg/(g·5min), 其中 A07 的 α -淀粉酶活性最高为麦芽糖 12.01 mg/(g·5min), 其次为 A04、S01、A17、A20 和 S05, A11 的 α -淀粉酶活性最低为麦芽糖 6.39 mg/(g·5min)。

由表 1 还可知, α -淀粉酶活性占总酶活性的百分比的变异范围为 8.11%~25.36%, 而 β -淀粉酶活性占总酶活性的百分比的变异范围为 74.64%~91.89%。从二者所占比例可知, β -淀粉酶占主导地位。

2.3 α 和 β -淀粉酶活性及总淀粉酶活性的相关与回归分析

由表 2 可知, 总淀粉酶活性与 α -淀粉酶活性和 β -淀粉酶活性的相关系数分别为 0.037 和 0.987, 其中与 β -淀粉酶活性达到了极显著水平。通过总淀粉酶活性与 α , β -淀粉酶活性的回归分析可得: $Y_{\text{总淀粉酶活性}} = -0.029 + 1.039X_{\alpha\text{-淀粉酶活性}} + 0.998X_{\beta\text{-淀粉酶活性}}$ 。回归方程的方差 F 值为 2837.1, 达到了极显著水平; 进入方程的各个自变

表 2 回归模型诊断

Table 2 The talbe of recursive model diagnoses

偏相关系数 Deflective correlation coefficient	t值 t-value	显著水平 Significance level	方程 Equation
$r(y, X_{\alpha\text{-amylase activity}}) = 0.922$	11.136	0.000	相关系数 Correlation coefficient $R=0.998$ 调整相关系数 Adjusted correlation coefficient
$r(y, X_{\beta\text{-amylase activity}}) = 0.998$	75.281	0.000	F 值(F -value)=2 837.1 显著水平 Durbin-Watson statistic Significance level p=0 $d=2.071$

量的偏相关系数也达到了极显著水平; 而且 Durbin-Watson 统计量 d 值为 2.07, 基本接近 2, 可见该回归方程是成立的。

3 讨论与结论

测定淀粉酶活性的方法较多, 如 3,5-二硝基水杨酸比色法、凝胶扩散法、降落数值法等, 其中 3,5-二硝基水杨酸比色法灵敏、准确、精确度高^[3-5], 在国内有许多学者都运用 3,5-二硝基水杨酸比色法来研究淀粉酶活性, 但是操作过程复杂且严格, 为了降低误差, 该研究在整个试验过程中将样品, 按照区组每次重复为 1 组同时测定, 共分 3 组同时利用电脑定时精确到每个样品的反应时间, 而且测定时均设重复, 从多个角度较少误差, 并利用统计分析排除外界误差, 提高测定的准确度。该研究结果证明了不同萝卜品种总淀粉酶活性、 α -淀粉酶活性和 β -淀粉酶活性的淀粉酶活性差异均显著, 也说明在遗传上也存在着质的区别, 也为进一步开展萝卜 α -淀粉酶和 β -淀粉酶的同工酶研究及淀粉酶纯化和理化性质研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 169-172.
- [2] 罗志刚, 杨景峰, 罗发兴. α -淀粉酶的性质及应用[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(8): 163-164.
- [3] 卫秀英, 薛香, 李一卓. 硝基水杨酸法与凝胶扩散法测定小麦 α -淀粉酶活性的比较[J]. 种子, 2007, 26(10): 68-70.
- [4] 岳海凤. 小麦 α -淀粉酶活性与主要品质性状的相关性及其遗传分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2009: 5-6.
- [5] 岳海凤, 郭庆炉, 薛香. 小麦 α -淀粉酶活性测定方法比较[J]. 陕西农业科学, 2008(6): 6-7.

Study on Differences of The Amylase Activity in Different *Raphanus sativus* L.

REN Xi-bo, DAI Xi-yao, ZHANG Jun-hua, WANG Peng, YAO Tai-mei, LIU Chang

(Department of Horticulture, Hebei North University, Xuanhua, Hebei 075131)

Abstract: To determine the α , β -amylase activity and total amylase activity in 25 radish varieties, field experiments used randomized block design and repeated 3 times, α -amylase, β -amylase and total amylase activity were estimated by the 3,5-dinitrosalicylic acid method after fleshy root harvest, for providing a reference and establishment relationship of α -amylase, β -amylase and total amylase activity. The results showed that there were significance differences of α -amylase, β -amylase and total amylase activity in different radish varieties; the A04, S01, A17, A20, S05 and A07 were the higher α -amylase activity and the A19, A06, A17, A12 and S03 were the higher β -amylase and total amylase activity. The ratio of α , β -amylase activity in total amylase activity was 8.11% to 25.57% and 75.26%~91.89%, respectively and the relationship of them was $Y_{\text{Total amylase activity}} = -0.029 + 1.039X_{\alpha\text{-amylase activity}} + 0.998X_{\beta\text{-amylase activity}}$.

Key words: *Raphanus sativus* L. (radish); amylase activity; variety