

# 高温对优质水稻籽粒淀粉形成及淀粉合成相关酶活性的影响

吕艳梅<sup>1,2</sup>, 谭伟平<sup>3</sup>, 肖层林<sup>1</sup>, 范美蓉<sup>4</sup>, 廖育林<sup>2</sup>

(1. 湖南农业大学, 湖南 长沙 410128; 2. 湖南省农业科学院, 湖南 长沙 410125;

3. 浙江农科种业有限公司, 浙江 杭州 310002; 4. 长沙环境保护职业技术学院, 湖南 长沙 410004)

**摘要:**为给水稻抗高温胁迫栽培提供依据,采用高温胁迫与自然温度对比的方法,通过盆栽试验和人工气候室控温,研究了花后高温(37℃)胁迫对籽粒淀粉形成及淀粉合成相关酶活性的影响。结果表明,花后高温(37℃)处理后,籽粒支链淀粉及总淀粉积累量均低于对照(CK,常温),表现为CK>T1>T2>T3;但直链淀粉含量均高于对照,表现为CK<T1<T2<T3。同时,高温对2个供试品种籽粒的淀粉形成均较对照有影响,其影响程度因品种而异,花后高温影响SSS、SS、AGPase、GBSS等淀粉合成相关酶的活性,该系列酶活性均出现先升后降的变化趋势,其峰值出现的先后时间不同,由此对产量产生的影响也存在差异。

**关键词:**水稻;高温胁迫;淀粉;淀粉合成相关酶

**中图分类号:**S511.01 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2014)01-0135-05

## Effect of High Temperature on Starch Formation of Grain and Activities of Enzymes Related to Starch Synthesis of Quality Rice Varieties

LÜ Yan-mei<sup>1,2</sup>, TAN Wei-ping<sup>3</sup>, XIAO Ceng-lin<sup>2</sup>, FAN Mei-rong<sup>4</sup>, LIAO Yu-lin<sup>2</sup>

(1. Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Academy of Agriculture Sciences,

Changsha 410125, China; 3. Zhejiang Nongke Seed Industry Co., Ltd., Hangzhou 310002, China;

4. Changsha Environmental Protection College, Changsha 410004, China)

**Abstract:** The effects of high temperature on grain starch accumulation, Yuzhenxiang and Xiangwanxian 12 were investigated. In grain growing in pots with temperature controlled and moisture controlled green house in different days after anthesis, compared with grain growing in natural temperature as CK. The results showed that amounts of amylopectin and starch accumulation in grains declined significantly under heat stress at different stages after anthesis. The order of the treatments were CK > T1 > T2 > T3 after anthesis, but the amounts of amylase showed the opposite trend. High temperature can brought large influence to rice yield and starch formation compared with the field trial, and different cultivated variety had different effect. High temperature on the heading stage could affect activities of enzymes related to starch synthesis of SSS, SS, AGPase and GBSS etc, this series of enzyme rose at first, reached the peak at different times, so it brought great influence on grain yield.

**Key words:** Rice; The stress of high temperature; Starch; Enzymes related to starch synthesis

淀粉是水稻籽粒的主要成分,分为直链淀粉和支链淀粉<sup>[1]</sup>。籽粒淀粉是叶片制造的光合产物以蔗糖形式运输到籽粒后,在可溶性淀粉合成酶(SSS)、蔗糖合成酶(SS)、腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)、束缚态淀粉合成酶(GBSS)等一系

列酶的催化作用下形成<sup>[2-4]</sup>。前人研究表明,孕穗至抽穗扬花期是水稻对高温最敏感时期,此时最适日平均温度为25~30℃。在幼穗分化期若遇日均温32℃以上或日最高气温35℃以上高温,颖花与枝梗的发育受阻,颖花数明显减少,并将延迟抽穗;

收稿日期:2013-11-06

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(2013BAD07B11);国际植物营养研究所(IPNI)资助项目(Hunan-15)

作者简介:吕艳梅(1978-),女,湖南益阳人,助理研究员,博士,主要从事优质稻的选育与推广工作。

通讯作者:肖层林(1950-),男,湖南湘潭人,教授,主要从事种子科学研究。

孕穗期高温使花粉在淀粉合成过程中的某些酶失活,抑制花粉内淀粉的合成积累,阻碍花粉发育,导致花粉不育<sup>[5-6]</sup>;开花期持续高温影响花药开裂,使花粉活力下降,阻碍花粉管伸长,导致不能授粉受精而形成空粒,造成产量损失,不同的水稻品种对高温胁迫的反应存在显著差异<sup>[7-9]</sup>。关于灌浆期高温对不同耐热性水稻品种籽粒淀粉形成及其水稻产量影响的比较研究,迄今报道较少。笔者以常规优质籼稻品种玉针香、湘晚籼 12 号为材料,研究灌浆期高温对 2 个品种籽粒淀粉合成及产量的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试品种

供试水稻品种为玉针香和湘晚籼 12 号,由湖南省水稻研究所提供。

### 1.2 试验设计

试验于 2012 年在湖南农业大学水稻研究所进行。4 月 30 日播种,5 月 26 日移栽,每个品种移栽 24 盆,每盆 6 株。将另一部分秧苗移栽于大田(对照)。盆栽、大田均以常规肥水管理。

在水稻齐穗期,将盆钵置于人工气候室处理,8:30-16:30 在 37℃,光照强度为 1 000~1 100  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,相对湿度为 70%~80% 条件下处理;16:30-8:30 以通风常温状态处理;处理天数设计 1 d(T1)、4 d(T2)、7 d(T3),分别处理 8 盆;各处理均以田间自然气温日均温为对照,盆栽植株的各处理结束后,均搬至自然条件下至成熟。

### 1.3 测定项目与方法

1.3.1 淀粉测定 采用双波长比色法<sup>[10]</sup>。

1.3.2 蔗糖 采用蒽酮比色法<sup>[10]</sup>。

1.3.3 酶活性测定 从齐穗后第 3 天起,选取 10 个水稻籽粒,每 3 d 取样一次,称重后,加 8 mL pH 值 7.5 Hepes-NaOH 缓冲液,冰浴研磨。3 000 r/min 冷冻离心 15 min,上清液用于酶活性测定,SS、GB-SS、AGPase 参照 Douglas<sup>[11]</sup>,SSS 参照 Nakamura<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 高温胁迫对籽粒淀粉含量的影响

在 3 个处理天数期间的田间日均温分别为 33.0、28.7、27.7℃。由表 1 可见,水稻灌浆期 37℃ 处理,籽粒中支链淀粉含量和总淀粉含量均不同程度地低于 CK,且随着处理时间的延长,淀粉含量表现 CK>T1>T2>T3,高温胁迫时间越长,淀粉积累量下降幅度越大,这主要是灌浆期高温使籽粒胚乳中淀粉积累速度加快,但过早停止,使灌浆期提前结束,不足以弥补积累时间缩短的损失,因此造成籽粒淀粉含量下降。随着高温胁迫时间的延长,直链淀粉含量均不同程度地大于 CK,直链淀粉含量上升,表现 CK<T1<T2<T3,可见灌浆期高温改变了成熟期籽粒淀粉组分的构成比例,因而影响稻米品质。

同时,在同一温度胁迫时长处理下,2 个品种间相互比较,玉针香的直链淀粉含量增幅大于湘晚籼 12 号,这说明高温有利于水稻直链淀粉的积累,且两品种对灌浆期高温的耐受能力存在差异,湘晚籼 12 号的耐高温能力较玉针香强。这表明不同水稻品种间基因型的差异,致使水稻籽粒中可溶性糖和蔗糖含量存在差异,这可能是导致籽粒间淀粉含量和积累量差异的原因之一。

表 1 灌浆期高温对成熟期水稻籽粒淀粉含量的影响

Tab. 1 Effect of high temperature after anthesis on content of starch in mature grain				%
品种 Cultivar	处理 Treatment	直链淀粉含量 Amylase content	支链淀粉含量 Amylopectin content	总淀粉含量 Starch content
玉针香 Yuzhenxiang	CK	16.01	47.97	63.98
	T1	16.96	45.19	62.15
	T2	17.83	41.16	58.99
	T3	18.67	36.76	55.43
湘晚籼 12 号 Xiangwanxian 12	CK	15.21	52.47	67.68
	T1	15.75	49.56	66.31
	T2	16.42	46.85	63.27
	T3	17.37	42.58	60.55

### 2.2 高温胁迫对籽粒蔗糖含量的影响

运输到籽粒中的光合产物最初以蔗糖形式存在,蔗糖降解为果糖和 UDPG 后才能用来合成淀粉。因此,蔗糖含量高低是影响淀粉形成的重要因素。从表 2 看出,蔗糖含量随着高温胁迫时间的延长而上升,T1 和 T3 之间存在显著差异,T2 和 T1、T3 处理之间差异不显著,且不论是高温处理还是对照都

存在此趋势。随着高温胁迫时间的延长,玉针香蔗糖含量上升幅度较湘晚籼 12 号大,这表明玉针香对籽粒蔗糖的利用能力更强。同时,高温处理与对照相比,高温处理下的玉针香和湘晚籼 12 号籽粒蔗糖含量均表现为升高,表明籽粒中的蔗糖分解减慢或由源器官输送到籽粒中的蔗糖量增加。

表 2 高温胁迫对籽粒蔗糖含量的影响

Tab. 2 Effect of high temperature after anthesis on content of sucrose in mature grain

品种 Cultivar	处理 Treatment	高温处理 1 d(T1) High temperature treatment for 1 day	高温处理 4 d(T2) High temperature treatment for 4 days	高温处理 7 d(T3) High temperature treatment for 7 days
玉针香	对照	2.99b	3.57ab	4.01a
Yuzhenxiang	高温	3.94b	5.03ab	5.85a
湘晚籼 12 号	对照	3.01b	4.31ab	5.11a
Xiangwanxian 12	高温	4.28b	5.15ab	6.07a

注: 标以不同字母的数据间差异达 5% 显著水平。

Note: Values within a column followed by a different letter are significantly different at the 0.05 probability level.

### 2.3 高温胁迫对籽粒 SS(蔗糖合成酶)活性的影响

在水稻籽粒的成熟过程中, 蔗糖合成酶的主要作用是促使蔗糖分解为尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG)和果糖, 为淀粉合成提供糖基。图 1 表明, 2 个供试品种籽粒灌浆过程中 SS 活性的变化动态基本相似, 均呈单峰曲线, 但不同品种在相同温度处理水平下, 其 SS 活性的高峰时间上有所差异, 其中湘晚籼 12

号的 CK、T1、T2、T3 在齐穗后 12 d 达到酶活性的峰值; 玉针香的 CK 在齐穗后 9 d, T1、T2、T3 在齐穗后 12 d 达到酶活性的峰值(图 1)。随着灌浆过程的推移 SS 活性均呈现明显下降的趋势, 即在高温下通过蔗糖合成酶途径分解蔗糖的能力总体呈现下降趋势, 但品种间存在差异。

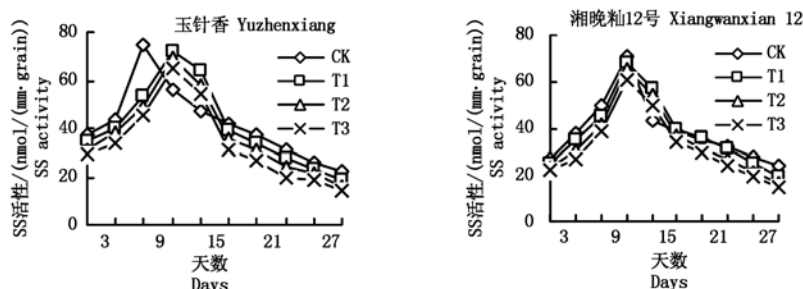


图 1 高温对玉针香、湘晚籼 12 号 SS 活性的影响

Fig. 1 Effect of high temperature stress on the SS activity

### 2.4 高温胁迫对籽粒 AGPase(焦磷酸化酶)活性的影响

AGPase 催化葡萄糖-1-磷酸和 ATP 形成焦磷酸和 ADPG, ADPG 是淀粉合成酶的底物, 该底物的浓度直接影响淀粉的合成速率和效率, 从而调节淀粉的形成与积累。两品种的 AGPase 均呈单峰曲线, 但两品种峰值出现的时间不同, 湘晚籼 12 号各处理

峰值出现的时间均在齐穗后 12 d; 高温处理玉针香在齐穗后 9 d 达到活性的峰值, 对照的峰值出现在齐穗后 12 d。经过高温处理后的湘晚籼 12 号、玉针香峰值均高于对照, 在齐穗后 15 d AGPase 活性出现下降的趋势。玉针香在前期 AGPase 活性值高于对照。在齐穗后 18 d 经过高温处理的玉针香、湘晚籼 12 号 AGPase 活性值都低于对照(图 2)。

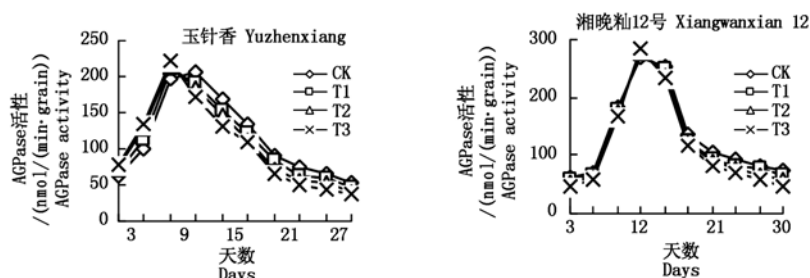


图 2 高温对玉针香、湘晚籼 12 号 AGPase 活性的影响

Fig. 2 Effect of high temperature stress on the AGPase activity

### 2.5 高温胁迫对 SSS(可溶性淀粉合成酶)活性的影响

SSS 主要参与支链淀粉的合成, 籽粒中较强的 SSS 活性有利于提高 ADPG 合成淀粉的能力<sup>[13]</sup>。在高温胁迫期间两品种的 SSS 活性有升高的趋势,

其酶活性高峰均出现在齐穗后第 9 天, 高峰过后 SSS 活性下降很快, 在齐穗后 21 d SSS 活性下降趋势趋缓, 湘晚籼 12 号在 T2 处理时酶活性值最大, 且各高温胁迫处理的峰值比对照提早 3 d 左右到达。在高温胁迫处理期间, 对照的 SSS 活性值都低于各

高温胁迫处理的酶活性值。玉针香在 T3 处理酶活性值最大,酶活性值高峰都出现在齐穗后 9 d,齐穗 9 d 后 SSS 活性值下降明显,在齐穗 15 d 后 T1、T2、

T3 的下降趋向缓和,对照在齐穗 12 d 后其酶活性值都略高于 T1、T2、T3,在齐穗后 18 d 下降趋向缓和(图 3)。

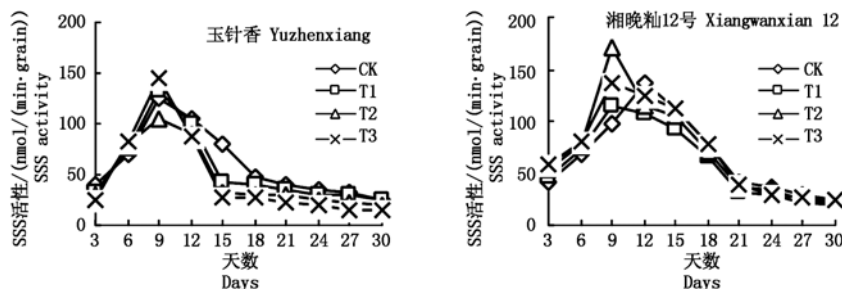


图3 高温对玉针香、湘晚籼 12 号 SSS 活性的影响

Fig.3 Effect of high temperature stress on the SSS activity

## 2.6 高温胁迫对 GBSS(束缚态淀粉合成酶)活性的影响

GBSS 主要参与水稻直链淀粉的合成,其活性与直链淀粉的积累速率存在显著的正相关<sup>[14]</sup>。在齐穗后 12 d 内,两品种 GBSS 活性值上升,说明高温有利于直链淀粉的生物合成,其中 T3 的峰值最大,其

他各高温处理峰值都明显高于对照,说明高温胁迫时间越长,直链淀粉含量增加越快。玉针香各峰值都明显高于湘晚籼 12 号,说明玉针香的 GBSS 活性强于湘晚籼 12 号,高温胁迫更有利于玉针香直链淀粉的进一步积累(图 4)。

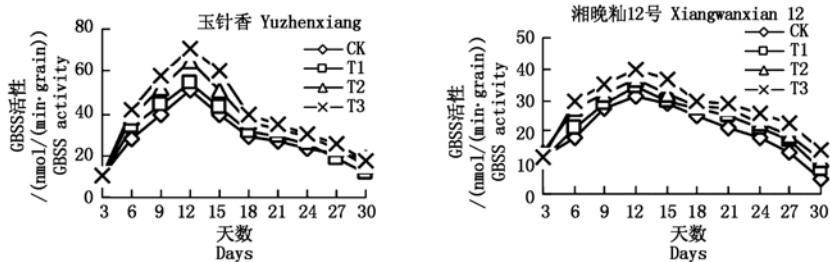


图4 高温对玉针香、湘晚籼 12 号 GBSS 活性的影响

Fig.4 Effect of high temperature stress on the GBSS activity

## 2.7 高温对产量的影响

单位面积有效穗数、每穗实粒数、结实率和千粒质量等是构成水稻产量的主要因素,在这几个因素中,千粒质量是比较稳定遗传的性状,受外界环境影响较小。从表 3 可以看出,高温胁迫明显地降低了

结实率,同时随着胁迫时间的延长,每穗实粒数相应减少,千粒质量变化不大。在同一处理水平下,玉针香的结实率、每穗实粒数都明显低于湘晚籼 12 号,因此,产量也大大低于湘晚籼 12 号,说明湘晚籼 12 号耐受逆境能力明显优于玉针香。

表3 高温胁迫对水稻产量构成因素的影响

Tab.3 Effect of high temperature on factors of rice yield in mature grain

处理时间 Test time	玉针香 Yuzhenxiang			湘晚籼 12 号 Xiangwanxian 12		
	结实率/% Seed setting percentage	千粒质量/g 1000-grain weight	每穗实粒数 Grain numbers per spike	结实率/% Seed setting percentage	千粒质量/g 1000-grain weight	每穗实粒数 Grain numbers per spike
CK	63.2	25.03	139	82.7	23.95	165
T1	67.4	25.32	146	87.8	24.01	163
T2	42.6	24.66	112	73.5	23.82	149
T3	31.5	24.16	95	54.6	22.79	130

## 3 结论与讨论

本研究中,水稻齐穗后高温明显降低了水稻籽粒淀粉积累量,但两品种对高温的反应程度有所不同,耐热性较弱的玉针香淀粉的积累量下降幅度大于耐热性较强的湘晚籼 12 号。直链淀粉含量是影

响稻米品质的主要因素之一,其含量的微弱变化即可导致稻米食味品质的明显不同。有研究表明,灌浆期高温使稻米的直链淀粉含量下降,支链淀粉含量上升<sup>[15]</sup>;又有研究认为,在高温条件下一些品种的直链淀粉含量略有提高,而另外一些品种的直链淀粉含量没有明显改变<sup>[16]</sup>。可见高温对水稻籽粒

直链淀粉含量影响的研究结果并不一致。本研究表明,齐穗后高温明显降低了籽粒淀粉和支链淀粉含量,提高了直链淀粉含量。可见灌浆期高温改变了水稻成熟期籽粒淀粉的组成比例。

在籽粒淀粉合成过程中,一系列淀粉合成酶(SS、SSS、GBSS、AGPase)起关键作用。SS 主要催化水稻籽粒蔗糖的降解,淀粉的合成主要是受蔗糖向淀粉的转化能力大小限制,本研究表明,37℃高温处理下的玉针香和湘晚粳12号,处理初期籽粒的蔗糖含量和SS活性与处理4d间的差异较小,但随着高温胁迫时间的延长,蔗糖含量显著升高,SS活性也呈现上升的趋势,高温处理结束一定时间后,SS活性呈下降趋势,这表明高温抑制了灌浆后期籽粒蔗糖合成酶活性,淀粉合成底物的供应减少,这可能导致后期籽粒中淀粉合成酶受抑,从而抑制了淀粉的合成。

有研究表明,水稻籽粒千粒质量下降主要是由于高温抑制了可溶性淀粉合成酶(SSS)的活性<sup>[17]</sup>,但水稻籽粒束缚态淀粉合成酶(GBSS)活性受高温影响不明显,在籽粒灌浆过程中AGPase活性变化与籽粒淀粉积累存在着密切的对应关系,其酶活性与淀粉积累量均呈显著或极显著正相关<sup>[18]</sup>。本试验表明,高温显著影响了水稻籽粒的GBSS活性,其中以37℃高温胁迫7d尤为显著。因此,高温显著影响了水稻籽粒淀粉合成相关酶的活性,进一步影响到水稻籽粒淀粉的积累。

周百万<sup>[19]</sup>研究指出,在开花时段若遇35℃以上高温,且持续高温60min左右,颖花受害最重。在开花期间日均温27.4~31.3℃,不实率为9.9%~14.9%;当温度在34.6~35.2℃时不实率为18.3%~21.3%,且随高温持续时间的延长,空秕率显著增加<sup>[20]</sup>。35℃以上高温对结实率的伤害较大,成熟期32℃以上高温引起千粒质量降低。在自然高温条件下,影响结实率的最大时期是在开花当日,其次是开花后1~3d。当日均温在27~30℃时,水稻的结实率随着温度的升高而提高,反之则降低<sup>[21]</sup>。

高温胁迫对玉针香、湘晚粳12号产量有明显影响,灌浆成熟期37℃高温胁迫,降低了结实率,同时千粒质量也受到一定的影响。在37℃高温处理下,湘晚粳12号的结实率、每穗实粒数、产量都明显高于玉针香,这说明湘晚粳12号耐受高温逆境能力明显优于玉针香。

因此,为了预防高温热害,选取耐热型品种是最基本的途径,同时辅以必要合理的栽培措施,为水稻进一步高产打下坚实的基础。

## 参考文献:

- [1] Asaoka M, Okuno K, Sugimoto Fuwa H. Effect of environmental temperature at the milky stage on amylose content and fine structure of amylopectin of waxy and nonwaxy endosperm starches of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Agric Biol Chem, 1985, 49(5): 373-379.
- [2] Nakamura Y, Yuki K, Park S Y. Carbohydrate metabolism in the developing endosperm of rice grain [J]. Plant Cell physiology, 1989, 30(6): 833-839.
- [3] Martha G, James Y, Kay D, et al. Starch synthesis in the cereal endosperm [J]. Curr Opin Plant Biol, 2003(6): 215-222.
- [4] Vandeputte G E, Delcours J A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: A focus on rice starch [J]. Carbohydrate Polymer, 2004, 58(4): 245-266.
- [5] Morita S, Yonemaru J I, Takanashi J I. Grain growth and endosperm cell size under high night temperatures in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Annals of Botany, 2005(95): 695-701.
- [6] Peng S B, Huang J L, Sheehy J E, et al. Rice yields decline with high temperature from global warming [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004, 101(27): 9971-9975.
- [7] 张彬, 芮雯奕, 郑建初, 等. 水稻开花期花粉活力和结实率对高温的响应特征 [J]. 作物学报, 2007, 33(7): 1177-1181.
- [8] Hanft J M, Jones R J. Kernel abortion in maize: II Distribution of <sup>14</sup>C among kernel carbohydrates [J]. Plant Physiol, 1986, 81(3): 511-515.
- [9] Hanft J M, Jones R J. Kernel abortion in maize: I. Carbohydrate concentration patterns and acid invertase of maize kernels induced to abort in vitro [J]. Plant Physiol, 1986, 81(3): 503-510.
- [10] He Z F. Analysis Technique for Grain Quality in Cereals and Oils [M]. Beijing: Agriculture Press, 1985: 144-294.
- [11] Douglas A S, Prescott H E. Sugar content and activity of sucrose metabolism enzymes in milled rice grain [J]. Plant Physiology, 1989, 89(5): 893-896.
- [12] Nakamura Y, Yuki K, Park S Y. Carbohydrate metabolism I the developing endosperm of rice grains [J]. Plant Cell Physiology, 1989, 56(7): 833-839.
- [13] Nakamura Y, Yuki K. Changes in enzyme activities associated with carbohydrate metabolism in developing kernels of two inbreds of maize [J]. Plant Physiol, 1988, 86(10): 1013-1019.
- [14] 刘霞, 姜春明, 郑泽荣, 等. 冀城8901和山农1391淀粉合成酶活性和淀粉组分积累特征的比较 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 897-903.
- [15] 姜华武. 水稻胚乳淀粉合成相关基因克隆与高温影响稻米品质的分子生理学机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2002.
- [16] 朱昌兰, 江玲, 张文伟, 等. 稻米直链淀粉含量和胶稠度对高温耐性的QTL分析 [J]. 中国水稻科学, 2006, 20(3): 248-252.
- [17] Wallwork M A B, Logue S J, Macleod L C. Effect of high temperature during grain filling on starch synthesis in the developing barley grain [J]. Austr J Plant Physiol, 1998, 25(3): 173-181.
- [18] 王月福, 于振文, 李尚霞, 等. 小麦籽粒灌浆过程中关键淀粉合成酶的活性及其效应 [J]. 作物学报, 2003, 29(1): 75-81.
- [19] 周百万. 夏秋高温热害对中稻结实率的影响及应对措施 [J]. 作物研究, 2009, 23(4): 237-239.
- [20] 褚家银. 中优II优63的高温伤害与勃起调整 [J]. 湖北农业科学, 1995(1): 16-17.
- [21] 池忠志, 姜心禄, 郑家国. 杂交籼稻结实率的高温响应研究初报 [J]. 西南农业学报, 2008, 21(1): 235-237.