

高温对水稻胚乳淀粉合成关键酶活性及内源激素含量的影响

张桂莲^{1,2}, 廖斌¹, 武小金², 肖应辉¹, 肖浪涛^{3,*}, 陈立云^{1,*}

¹#湖南农业大学农学院, 长沙410128; ²#深圳市龙岗区农业科技推广中心博士后创新基地, 广东深圳518118; ³湖南农业大学植物激素与生长发育湖南省重点实验室, 长沙410128

摘要: 以耐热性不同的两个水稻品系为材料, 研究了高温胁迫对胚乳淀粉合成关键酶活性及内源激素含量的影响。结果表明, 高温胁迫下胚乳ADPG焦磷酸化酶活性(AGPase)、可溶性淀粉合成酶(SSS)和淀粉分支酶(SBE)活性升高, 到达峰值后下降。耐热品系996胚乳淀粉合成酶类活性的下降幅度小于热敏感品系4628。高温下淀粉积累速率与AGPase、SSS活性显著相关。高温下胚乳中ABA含量升高, IAA含量和Z+ZR含量降低, 热敏感品系4628胚乳中内源激素含量变化幅度均大于耐热品系996。

关键词: 水稻; 高温; 胚乳; 淀粉合成关键酶; 激素

Effect of High Temperature on Activities of Enzymes Associated with Starch Synthesis and Hormones Contents in Endosperm of Rice

ZHANG Gui-Lian^{1,2}, LIAO Bin¹, WU Xiao-Jin², XIAO Ying-Hui¹, XIAO Lang-Tao^{3,*}, CHEN Li-Yun^{1,*}

¹#College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; ²#Post-Doctoral Innovation Base of Agricultural Science and Technology Promotion Center of Longgang District, Shenzhen, Guangdong 518118, China; ³Hunan Provincial Key Laboratory of Phytohormones and Growth Development, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: The experiment was carried out in growth chamber to investigate the effect of high temperature on the activities of the key enzymes associated with starch synthesis and hormone contents in endosperm of two rice (*Oryza sativa*) lines including the heat-tolerant line 996 and heat-sensitive line 4628. The results showed that AGPase, SSS and SBE enzyme activities increased under high temperature stress, then decreased after the period of the peak, the decreasing extent in heat resistant line 996 was lower than that in heat sensitive line 4628. There was a significant correlation between the starch accumulation rate and the AGPase, SSS activities. The ABA content increased, IAA content and Z+ZR content decreased under high temperature stress, the change scope of endogenous hormone content in heat-tolerant line 996 was greater than that of heat-sensitive line 4628.

Key words: rice (*Oryza sativa*); high temperature; endosperm; key enzymes of starch synthesis; hormone

近年来, 长江流域水稻产区极端高温发生频率增加, 持续时间延长, 范围不断扩大, 造成授粉不良(周建霞等2014)或影响胚乳灌浆, 导致空秕粒增多、籽粒充实度下降, 垩白度增加和品质下降(李太贵等1997; 李训贞等2002), 高温胁迫已成为水稻优质的重要限制因素。据报道, 温度对稻米品质形成的影响主要在水稻灌浆的前、中期(李训贞等2002; 李太贵等1997; 程方民和张嵩午1999)。淀粉分支酶(starch branching enzyme, SBE)活性对温度变化的反应较为敏感, 温度过高过低都降低该酶活性(金正勋等2005)。高温影响胚乳的淀粉结构(程方民等2001)。不同温度下籽粒中蔗糖合成酶(sucrose synthase, SS)和可溶性淀粉合成酶(soluble starch synthase, SSS)的活性与淀粉含量关系

密切, 颗粒结合性淀粉合成酶活性与直链淀粉含量的关系最为密切(程方民等2003)。ADPG焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPase)和SSS活性对温度的影响反应较为迟钝(金正勋等2005)。

高温热害的机制归根结底在于高温胁迫破坏水稻体内正常的生理代谢活动。在遭受高温胁迫的过程中, 水稻体内的各种抗性物质和内源激素

收稿 2014-08-12 修定 2014-11-22

资助 国家自然科学基金项目(30900874)、湖南省自然科学基金项目(11JJ3026)、湖南省教育厅优秀青年基金项目(13B052)和作物学开放基金项目(ZWKF201301)。

同等贡献。

* 通讯作者(E-mail: langtaoxiao@163.com, Tel: 0731-84635261; E-mail: chenliyun996@163.com, Tel: 0731-84618757)。

都会发生变化,产生防御胁迫的适应能力。王丰等(2006)认为高温下早期灌浆加速及灌浆持续时间缩短与籽粒中内源激素含量的变化有关。以往在温度影响水稻籽粒灌浆的研究中,多是在灌浆期进行全程高温胁迫试验,探讨高温对水稻胚乳淀粉合成酶类活性和品质的影响。由于水稻灌浆期高温天气往往是间断的,并不是全程持续的,而且不同时段高温对稻米品质的影响不同,本研究在前期探讨高温影响稻米品质关键时期(抽穗后8~21 d)的基础上(张桂莲等2013),进一步探讨高温胁迫下胚乳淀粉合成关键酶活性差异及其与淀粉积累的关系,以及内源激素含量的变化,旨在揭示高温对稻米品质的影响机理,以期耐高温品种选育及相关抗高温栽培措施的应用提供理论依据。

材料与方法

1 供试材料

试验于2012~2013年在湖南农业大学水稻所试验田进行。供试材料为水稻(*Oryza sativa* L.)耐热品系996和热敏感品系4628,二者在耐热性方面具有显著差异。在异常高温条件下种植,前者的结实率为66.31%,结实性和产量未受明显影响;而后者结实率为30.11%,影响很大,两品系均由湖南农业大学水稻科学研究所提供。

2 试验方法

2012年3月30日播种,4月27日移栽,2013年4月5日播种,5月11日移栽。抽穗前20 d,选生育进程基本一致的植株带泥移入盆钵(盆钵内径266 mm,高190 mm)中,每钵3株。抽穗当天对穗进行标记,于抽穗第8天,每品系选30盆移入人工气候室进行高温(8:00~17:00, 37 °C; 17:00~次日8:00, 30 °C)和适温(8:00~17:00, 30 °C; 17:00~次日8:00, 25 °C)处理。处理期间相对湿度控制在75%左右,植株冠层光通量密度为850 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。连续处理15 d后,将所有植株置于适温条件下进行生长至成熟。分别于处理1、4、8、12和15 d取标记穗中部同一部位籽粒,一部分用于酶活性和激素含量的测定;另一部分籽粒于105 °C杀青30 min后,80 °C烘干至恒重,用于胚乳淀粉积累测定。高温处理15 d时,测定直链淀粉含量。每处理重复3次。

参照沈波等(1997)方法测定SBE活性。参照梁建生等(1994)和Nakamura等(1989)方法测定AGPase和SSS活性。参照尹燕桦和董学会(2008)方法测定胚乳淀粉含量。用ELISA方法测定籽粒胚乳内源激素ABA、Z+ZR和IAA的含量。文中数据为2年数据的平均值。

所有实验数据处理和方差分析采用Microsoft Excel和SAS软件完成。

实验结果

1 高温对水稻胚乳淀粉合成关键酶活性的影响

1.1 高温对水稻胚乳SBE活性的影响

从图1可知,高温胁迫下,两品系籽粒胚乳SBE活性先升高,至处理第4天达到峰值,随后下降。对耐热品系996而言,高温处理的胚乳SBE活性高于适温处理。但对热敏感品系4628来说,前期高温处理的酶活性都高于适温处理;至高温处理15 d时,胚乳SBE活性才低于适温处理的。整个高温处理期间,996籽粒胚乳SBE活性均高于4628的。

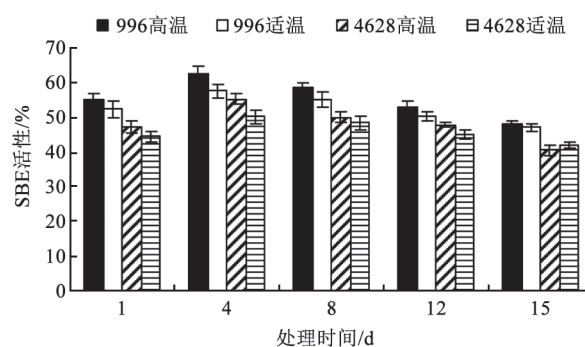


图1 高温对胚乳SBE活性的影响

Fig.1 Effect of high temperature on SBE activity in endosperm

1.2 高温对水稻胚乳AGPase活性的影响

高温胁迫下,两品系籽粒胚乳AGPase活性变化趋势与SBE活性基本一致(图2)。耐热性不同品系之间存在差异。在高温处理1~8 d,热敏感品系4628的AGPase活性均较适温处理明显升高,在第4天达高峰后,下降幅度很大;在第12和15天时,AGPase活性低于适温处理。而高温处理的耐热品系996在第4天的高峰过后下降幅度较适温处理的小。整个高温处理期间,996籽粒AGPase活性均高于4628的。这表明一定程度的高温胁迫能短期提高AGPase活性,之后的活性下降与品种的耐热性有关。

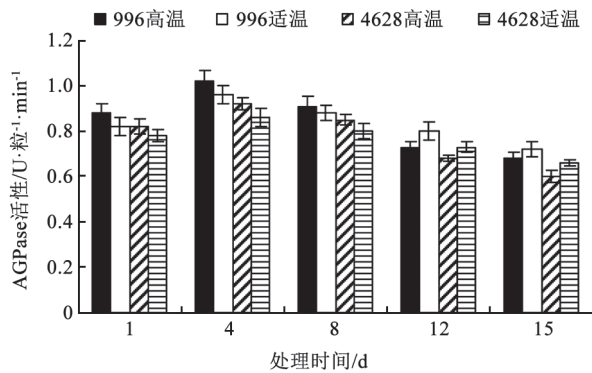


图2 高温对胚乳AGPase活性的影响

Fig.2 Effect of high temperature on AGPase activity in endosperm

1.3 高温对水稻胚乳SSS活性的影响

由图3可见, 两品系籽粒SSS活性变化表现为先升高, 至处理第4天达到峰值, 随后下降。在前期(1~4 d), 高温处理的籽粒SSS活性升高, 且高于适温处理; 达到峰值后, SSS活性下降且均低于适温处理。整个高温处理期间, 996籽粒的SSS活性变化幅度小于4628。可见, 耐热性不同品种间籽粒SSS活性对高温的感应差异很大。

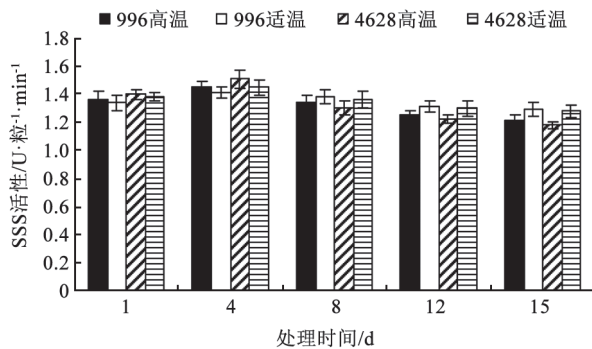


图3 高温对胚乳SSS活性的影响

Fig.3 Effect of high temperature on SSS activity in endosperm

2 高温对水稻胚乳淀粉积累的影响

2.1 高温对水稻胚乳淀粉积累速率的影响

由图4可见, 高温下籽粒淀粉积累速率的动态变化与淀粉合成关键酶活性变化趋势(图1~3)相似, 呈单峰特征, 峰值在高温处理第4天, 之后有所下降。在前期(1~4 d), 高温处理的两品系淀粉积累速率均高于同期适温; 峰值过后, 则明显低于适温处理的。整个高温处理期间, 996籽粒淀粉积累速率高于4628的。

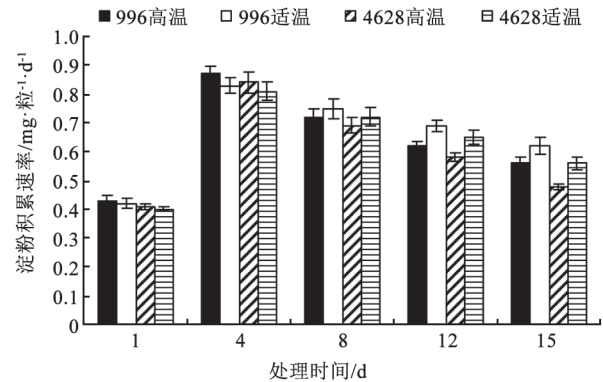


图4 高温对胚乳淀粉积累速率的影响

Fig.4 Effect of high temperature on starch accumulation rate in endosperm

2.2 高温下胚乳淀粉积累速率与淀粉合成关键酶活性之间的相关分析

从表1来看, 高温胁迫下, 两品系的胚乳淀粉积累速率与SSS活性变化间的相关系数达到极显著水平, 与AGPase活性变化的相关系数达到显著水平, 而与SBE活性变化的相关系数未达到显著水平。这说明高温胁迫下胚乳淀粉积累速率的差异与SSS、AGPase活性变化密切相关, 而与SBE活性变化的关系不大。

表1 高温下淀粉积累速率与酶活性的相关性

Table 1 The correlation of starch accumulation rate and enzyme activity under high temperature

| 品系 | 淀粉积累速率与酶活性的相关系数(<i>r</i>) | | |
|------|-----------------------------|---------|--------|
| | SSS | AGPase | SBE |
| 996 | 0.9703** | 0.9234* | 0.7431 |
| 4628 | 0.9761** | 0.8961* | 0.7713 |

**表示在0.01水平上显著; *表示在0.05水平上显著。

耐热性品系996在高温胁迫下直链淀粉含量为20.64%, 适温下直链淀粉含量为24.80%, 高温下直链淀粉含量比适温降低16.77%。而热敏感品系4628高温下直链淀粉含量为10.82%, 适温下为12.63%, 高温下直链淀粉含量比适温降低14.33%。高温下直链淀粉含量与SBE活性、AGPase活性、SSS活性间相关性均不显著, 相关系数(*r*)分别为0.8061、0.9242和0.1067, 这表明高温胁迫后稻米直链淀粉含量的降低与其灌浆过程中SBE、AGPase和SSS活性高低并无必然的联系。

3 高温对水稻胚乳内源激素含量的影响

3.1 高温对水稻胚乳ABA含量的影响

从图5可知, 灌浆结实期高温导致两品系籽粒ABA含量的升高, 但随着灌浆进程的推移表现出一定幅度的下降趋势, 高温处理前期(1~8 d)的下降幅度较大, 后期(12~15 d)下降幅度较小。对996而言, 高温处理下籽粒ABA含量均高于适温处理的。对4628来说, 处理1~12 d, 籽粒ABA含量高于同期适温处理的, 但在处理15 d时则略低于适温处理的。这说明高温对水稻灌浆过程中籽粒内ABA的形成和积累有显著的促进作用。两品系相比, 耐用品系996籽粒中ABA含量高于热敏感品系4628的。

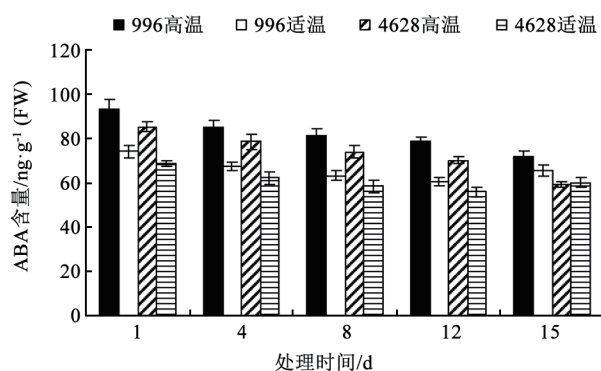


图5 高温对胚乳ABA含量的影响

Fig.5 Effect of high temperature on ABA content in endosperm

3.2 高温对水稻胚乳Z+ZR含量的影响

从图6可知, 与适温处理相比, 高温胁迫下籽粒Z+ZR含量表现为降低趋势, 且随着灌浆进程的推移呈现不断下降趋势, 但在处理15 d时有所回升。高温处理的4628籽粒Z+ZR含量变化幅度大于996的, 但整个高温处理期间, 996籽粒Z+ZR含量高于4628的。

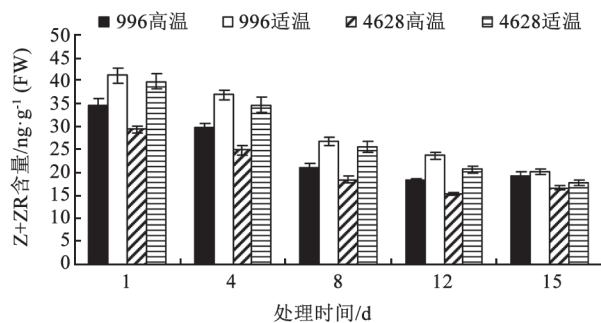


图6 高温对胚乳Z+ZR含量的影响

Fig.6 Effect of high temperature on Z+ZR content in endosperm

3.3 高温对水稻胚乳IAA含量的影响

从图7可知, 与籽粒中Z+ZR含量的动态变化趋势相似, 高温胁迫下籽粒IAA含量降低, 且随着处理时间延长表现出不断下降趋势。高温处理1~12 d的籽粒IAA含量低于同期适温处理的, 但在高温处理15 d时高于适温处理的。与耐用品系996相比, 热敏感品系4628籽粒IAA含量下降幅度较大。

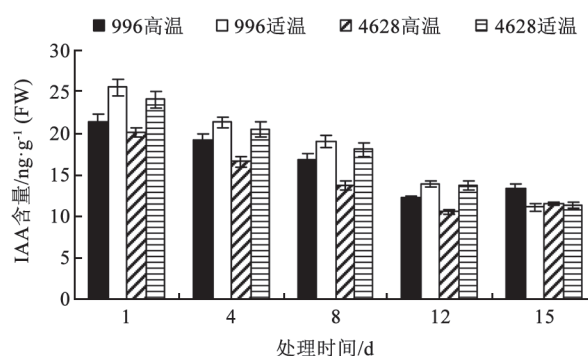


图7 高温对胚乳IAA含量的影响

Fig.7 Effect of high temperature on IAA content in endosperm

讨论

水稻籽粒中的淀粉含量一般占糙米量的90%以上, 水稻籽粒的灌浆过程主要为淀粉的合成和积累过程。AGPase、SSS和SBE是籽粒淀粉合成代谢的关键酶, 对水稻籽粒中淀粉合成和积累起着重要的调节作用(梁建生等1994), 水稻胚乳灌浆的最适温度为20~30℃, 过高或过低温度都会对淀粉积累产生不良影响。本文结果表明, 短期高温胁迫能刺激与淀粉合成关键酶活性的提高, 有利于加速淀粉的积累, 但随着胁迫时间延长, 淀粉合成关键酶的活性受抑制, 其程度与品种对高温的耐性有关。从胚乳淀粉积累速率变化与淀粉合成关键酶活性变化的相关系数看, 它与SSS和AGPase的关系最为密切。这与程方民等(2001)、李木英等(2007)的研究结果一致。

关于SBE活性的变化对水稻籽粒中淀粉组成的影响, 目前的研究报道不一。Mizuno等(1992)认为, SBE在淀粉合成过程中的作用是通过形成 α -1,6糖苷键, 从而形成分支的糖链, 因而是影响水稻籽粒中淀粉的组成与结构的关键酶。Nakamura等(1989)认为SBE是控制淀粉合成的关键酶, SBE与

可溶性淀粉合成酶一起,主要作用于支链淀粉的合成过程。本文结果中SBE活性与淀粉积累速率和直链淀粉含量间的相关性不显著,这说明高温影响淀粉积累和直链淀粉含量的变化并不完全与SBE活性有关。Kubo等(1999)和Fujita等(2003)报道,异淀粉酶(ISA)在支链淀粉合成中对淀粉分支葡萄糖分子链的长短起主要作用,而支链淀粉酶(R酶)是在支链淀粉的多级簇状结构中水解 α -1,6糖苷键,对分支链的数量起作用,因此推测高温影响使直链淀粉在淀粉总量中所占比例下降,可能与R酶水解淀粉分支 α -1,6糖苷键的活性下降有关,对此尚需进一步探讨。

植物内源激素的含量变化以及各种激素之间的协同或拮抗,调节着籽粒中蔗糖、氨基酸、蛋白质及各种酶类的合成和运输速度,进而调节籽粒灌浆进程(Nakamura等1989;李木英等2007)。据Rook等(2001)研究,ABA能提高籽粒中AGPase和SBE活性,从而促进淀粉合成。杨建昌等(1999)报道,水稻灌浆初期,ABA主要通过提高籽粒中淀粉合成酶、酸性转化酶及ATP酶的活性,从而提高籽粒对蔗糖的卸载和转化能力。本文结果表明,与适温相比,高温胁迫下,籽粒ABA含量升高,IAA含量和Z+ZR含量降低,与热敏感品系4628相比,耐热品系996籽粒中内源激素含量变化幅度小些,这与滕中华等(2010)研究结果一致。这说明高温胁迫导致籽粒中内源激素比例(主要是ABA与各种激素及激素总量的比值)失衡,影响胚乳细胞内淀粉的进一步合成及较高水平蔗糖的积累,使籽粒提早成熟,淀粉合成速率迅速下降,稻米品质变劣。耐热性品种对高温耐受程度高于热敏感品种。由于内源激素作用的机理涉及从激素与受体结合开始到生理效应发生为止的信号转导过程,其分子机理和协同调控机制非常复杂,有待进一步研究和证实。

参考文献

程方民,蒋德安,吴平,石春海(2001). 早籼稻籽粒灌浆过程中淀粉合成酶的变化及温度效应特征. 作物学报, 27: 201~206
程方民,张嵩午(1999). 水稻籽粒灌浆过程中稻米品质动态变化及温度影响效应. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 25:

347~350

- 程方民,钟连进,孙宗修(2003). 灌浆结实期温度对早籼水稻籽粒淀粉合成代谢的影响. 中国农业科学, 36: 492~501
金正勋,杨静,钱春荣,刘海英,金学泳,秋太权(2005). 灌浆成熟期温度对水稻籽粒淀粉合成关键酶活性及品质的影响. 中国水稻科学, 19: 377~380
李木英,石庆华,胡志红,潘晓华,谭雪明(2007). 高温胁迫对不同早稻品种胚乳淀粉合成酶类活性的影响. 中国农业科学, 40 (8): 1622~1629
李太贵,沈波,陈能,罗玉坤(1997). Q酶在水稻籽粒蛋白形成中作用的研究. 作物学报, 23: 338~344
李训贞,梁满中,周广洽,陈良碧(2002). 水稻开花时的环境条件对花粉活力和结实的影响. 作物学报, 28: 417~420
梁建生,曹显祖,徐生,朱庆森(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): 685~691
沈波,陈能,李太贵,罗玉坤(1997). 温度对早籼稻米蛋白发生与胚乳物质形成的影响. 中国水稻科学, 11 (3): 183~186
滕中华,智丽,吕俊,宗学风,王三根,何光华(2010). 灌浆期高温对水稻光合特性、内源激素和稻米品质的影响. 生态学报, 30 (23): 6504~6511
王丰,程方民,刘奕,钟连进,张国平(2006). 不同温度下灌浆期水稻籽粒内源激素含量的动态变化. 作物学报, 32 (1): 25~29
杨建昌,王志琴,朱庆森,苏宝林(1999). ABA与GA对水稻籽粒灌浆的调控. 作物学报, 25 (3): 341~348
尹燕桦,董学会(2008). 种子学实验技术. 北京: 中国农业出版社, 12
张桂莲,张顺堂,王力,肖应辉,唐文帮,陈光辉,陈立云(2013). 抽穗结实期不同时段高温对稻米品质的影响. 中国农业科学, 46 (13): 2869~2879
周建霞,张玉屏,朱德峰,林贤青,向镜,陈惠哲,胡声博(2014). 高温下水稻开花习性对受精率的影响. 中国水稻科学, 28 (3): 297~303
Fujita N, Kubo A, Suh DS, Wong KS, Jane JL, Ozawa K, Takaiwa F, Inaba Y, Nakamura Y (2003). Antisense inhibition of isoamylase alters the structure of amylopectin and the physicochemical properties of starch in rice endosperm. *Plant Cell Physiol*, 44: 607~618
Kubo A, Fujita N, Harada K, Matuda 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: 399~410
Mizuno K, Kamura K, Arai Y, Kawasaki T, Shimada H, Baba T (1992). Starch branching enzymes from immature rice seeds. *J Biochem*, 112: 643~651
Nakamura Y, Yuki K, Park S-Y, Ohya T (1989). Carbohydrate metabolism in the developing endosperm of rice grains. *Plant Cell Physiol*, 30: 833~839
Rook F, Corke F, Card R, Munz G, Smith C, Bevan MW (2001). Impaired sucrose-induction mutants reveal the modulation of sugar-induced starch biosynthetic gene expression by abscisic acid signalling. *Plant J*, 26: 421~433