

水稻灌浆成熟期籽粒谷氨酰胺合成酶活性变化及其与稻米品质关系的初步研究

金正勋 钱春荣 杨 静 刘海英

(东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030 ; E-mail : zxjin326@hotmail.com)

Changes of Activity of Glutamine Synthetase During Grain Filling and Its Influence on Rice Grain Quality

JIN Zheng xun , QIAN Chun rong , YANG Jing , LIU Hai ying

(Agricultural College , Northeast Agricultural University , Harbin 150030 , China ; E-mail : zxjin326@hotmail.com)

Abstract : Four japonica rice varieties differed in cooking and eating quality were used in the pot experiment to study the activity of glutamine synthetase during grain filling in association with rice quality . The activity of glutamine synthetase gradually increased and then declined as a single peak curve with the process of grain filling . The 15th day after heading was a turning point , before which the enzymatic activities of inferior varieties with high protein content were higher than those of superior varieties with low protein content and after which they were reverse . The activity of glutamine synthetase was negatively correlative with taste meter value , peak viscosity and breakdown at the early stage of grain filling and positively correlative with them at the middle and later stages , moreover , they were positively correlative with protein content of rice grain and set back at the early stage and negatively correlative with them at the middle and later stages , and correlative degree varied with grain filling stage . The duration from 15 d to 20 d after heading was the breakthrough stage at which the correlative nature varied between the activity of glutamine synthetase in rice grain and taste meter value and RVA properties .

Key words : rice ; grain filling stage ; glutamine synthetase ; cooking and eating quality ; starch viscosity ; relationship

摘 要 : 选用稻米蒸煮食味品质有显著差异的 4 个粳稻品种 , 通过盆栽试验对水稻灌浆成熟期籽粒谷氨酰胺合成酶活性变化及其与稻米蒸煮食味品质关系进行了初步研究。结果表明 , 水稻灌浆过程中籽粒谷氨酰胺合成酶活性随灌浆进程逐渐增加 , 达到峰值后又逐渐下降 , 呈单峰曲线变化 ; 抽穗 15 d 以前蛋白质含量高的品种谷氨酰胺合成酶活性大于蛋白质含量低的品种 , 而以后与之相反 ; 灌浆前期 , 籽粒谷氨酰胺合成酶活性与味度值、最高黏度、崩解值间呈负相关 , 灌浆中、后期呈正相关 , 而与籽粒最终蛋白质含量和黏滞峰消减值在灌浆前期呈正相关 , 灌浆中、后期呈负相关 , 而且相关程度随灌浆时段而发生变化 ; 抽穗后 15 ~ 20 d 是籽粒谷氨酰胺合成酶活性与味度值、RVA 谱特性间的相关性质发生变化的转折时期。

关键词 : 水稻 ; 灌浆期 ; 谷氨酰胺合成酶 ; 蒸煮食味品质 ; 淀粉黏滞性 ; 相关性

中图分类号 : Q946.5 ; S311 ; S511.01

文献标识码 : A

文章编号 : 1001-7216(2007)01-0103-04

就植物的生长和发育而言 , 氮素的同化是一个十分重要的生理过程。其中 , 无机氮必须同化为谷氨酰胺和谷氨酸等有机氮才能为植物体所吸收和利用。谷氨酰胺合成酶是参与这一氮同化过程的关键酶^[1] , 而且参与多种氮代谢的调节。谷氨酰胺合成酶活性的提高可带动氮代谢运转增强 , 促进氨基酸的合成和转化。例如 , 谷氨酰胺合成酶活性与单粒蛋白氮含量呈显著或极显著正相关^[2] ; 羧甲基壳聚糖能明显提高水稻齐穗期叶片内谷氨酰胺合成酶的活性 , 增加籽粒内全氮、蛋白氮的含量^[3] ; 烯效唑能提高水稻灌浆成熟期籽粒的谷氨酰胺合成酶活性和蛋白质含量^[2] ; 增施磷肥和钾肥能提高水稻叶片和籽粒的谷氨酰胺合成酶活性 , 有利于叶片蛋白质合成代谢^[4] ; 增施氮肥和增加穗粒肥比例 , 能提高叶片和籽粒的全氮、蛋白氮和非蛋白氮以及谷氨酰胺合成酶活性^[5] ; 增加施氮量能提高小麦旗叶的谷氨酰胺合成酶活性^[6] 等。

通常认为 , 含氮化合物以氨基酸、酰胺形式从营养器官进入发育中的作物籽粒 , 并在籽粒中合成蛋白质。由于稻米蛋白质合成与氮代谢密切相关 , 而蛋白质是影响稻米蒸煮食味品质的主要因素之一 , 与蒸煮食味品质有密切关系^[7-9]。因此 , 氮代谢关键酶之一的谷氨酰胺合成酶活性变化势必与水稻蒸煮食味品质有关。然而水稻籽粒谷氨酰胺合成酶活

性变化与蒸煮食味品质的关系仍缺少研究。本研究试图明确不同品质类型水稻灌浆成熟期籽粒谷氨酰胺合成酶活性变化及其与蒸煮食味品质的关系 , 以为水稻优质高产育种和栽培调控提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

选用稻米蒸煮食味品质不同的 4 个粳稻品种水陆稻 1 号、藤系 180、富士光、东农 415 , 于 2004 年在东北农业大学农学院内进行盆栽试验。盆的规格为直径 20 cm、高 20 cm , 每个品种均设 3 组 (3 个重复) , 每组 5 盆。大棚旱育苗 , 4 月 6 日播种 , 5 月 25 日插秧 , 返青后每个盆保留生长一致的秧苗 4 株。插秧前每盆施磷酸二氢铵和尿素各 1 g , 最高分蘖期每盆追施 1 g 尿素。

在抽穗期 , 各组选取生长整齐一致且同日抽穗的稻穗挂

收稿日期 : 2006-05-23 ; 修改稿收到日期 : 2006-07-25。

基金项目 : 黑龙江省教育厅重大资助项目 (10S11Z002) ; 黑龙江省自然科学基金资助项目 (C01-10) ; 中国水稻科学发展基金资助项目 (0003219)。

第一作者简介 : 金正勋 (1960 -) , 男 , 博士 , 教授。

牌标记 20 穗,自抽穗第 10 天起,每隔 5 d 取样,每次于上午 9:00~9:30 取标记穗 3 个,迅速用液氮冷冻处理后保存于 -20℃ 冰柜中,然后选取灌浆基本一致的穗中部籽粒用于谷氨酰胺合成酶活性测定,其余的籽粒用于全氮含量测定。

收获时各品种按组混收,自然干燥 3 个月,糙米经 1.9 mm 分级筛后,用全自动精米机将糙米加工成出米率为 90% 的精米,用旋涡式粉碎机将精米磨成粉,用于品质分析。

1.2 品质测定方法

用半微量凯氏定氮法测定籽粒全氮和稻米蛋白质含量,换算系数为 5.95。按照农业部标准 (NY/T83-88) 测定稻米直链淀粉含量。按照沈鹏等^[10]方法测定稻米味度值和 RVA 谱特性。

1.3 谷氨酰胺合成酶活性测定方法

谷氨酰胺合成酶活性测定方法参照韩国农村振兴厅作物科学院编写的《植物生理实验指导》加以修改,具体测定方法如下。

1.3.1 粗酶液的提取

取籽粒样品 15 粒,去壳去胚,称量。在预冻的研钵中加预冷的提取缓冲液 5 mL (包含 0.05 mol/L Hepes, 0.01 mol/L cystein, 5% polyvinylpolypyrrolidone, 用 NaOH 调 pH 为 7.0),冰浴研磨,最后用 5 mL 提取缓冲液冲洗研钵,一并倒入离心管。研磨液在 12 000 × g 下离心 10 min (4℃),取上清液用于酶活性测定。

1.3.2 酶活性测定

取 0.8 mL 粗酶液加入酶反应液 (0.6 mL 酶提取缓冲液, 0.2 mL 0.6 mol/L 硫酸镁, 0.8 mL 1.2 mol/L L-谷氨酸钠, pH 7.0, 0.4 mL 0.06 mol/L ATP, 0.2 mL 0.7 mol/L 羟胺和 1.0 mol/L 氢氧化钠体积比 1:1 混合液) 2.2 mL,在 40℃ 下反应 30 min 后,加入反应终止液 0.8 mL (10% 三氯化铁,用 0.2 mol/L 盐酸溶液溶解的 24% 三氯乙酸, 50% 盐酸,

按体积比 1:1:1 混合),放置 10 min 后,测定 540 nm 下的 OD 值。

2 结果与分析

2.1 不同品种间蒸煮食味品质比较

籽粒蛋白质含量是影响稻米蒸煮食味品质的主要因素之一,而味度值是代替官能鉴定对稻米食味品质进行直接评价的指标,它与官能评价关系密切,味度值越大,食味品质越好,反之,食味品质越差。RVA 谱特征值是反映稻米黏滞特性的主要物理指标。

由表 1 可见,水陆稻 1 号和东农 415 的蛋白质含量和消减值显著高于富士光和藤系 180,而水陆稻 1 号和东农 415 味度值、最高黏度、崩解值极显著小于富士光和藤系 180。根据上述品质性状指标大小,可以把供试品种划分为蒸煮食味品质好的 2 个优质品种藤系 180 和富士光及蒸煮食味品质不好的 2 个劣质品种水陆稻 1 号和东农 415,这与实际官能品尝评价结果一致。

2.2 籽粒谷氨酰胺合成酶活性和全氮含量变化动态

由图 1 A 可见,水稻灌浆过程中供试的 4 个品种籽粒谷氨酰胺合成酶活性变化趋势基本一致,表现为酶活性随灌浆进程逐渐增加,达到峰值后又逐渐下降,呈单峰曲线变化。但不同品质类型的品种酶活性达到峰值的时间和数值存在差异。就酶活性达到峰值的时间而言,水陆稻 1 号和东农 415 为抽穗后 15 d,而藤系 180 和富士光为抽穗后 20 d,前者比后者早。就酶活性大小而言,抽穗 15 d 以前水陆稻 1 号和东农 415 的酶活性大于藤系 180 和富士光,其中水陆稻 1 号的酶活性极显著大于其他品种,而以后与之相反,其中藤系 180 的酶活性显著大于其他品种 (表 2)。说明不同品质类型的品种灌浆成熟期籽粒氮代谢在时间和程度上均有差异。

由图 1 B 可见,水稻灌浆过程中供试的 4 个品种籽粒全

表 1 不同品种稻米蛋白质含量、味度值及 RVA 谱特性

Table 1. Protein content, taste meter value and RVA properties of different rice varieties.

品种 Variety	蛋白质含量 Protein content /%	味度值 Taste meter value	最高黏度 Peak viscosity /RVU	崩解值 Breakdown /RVU	消减值 Setback /RVU
水陆稻 1 号 Shuiludao 1	7.26 bAB	55.0 cC	309.1 cC	103.9 cC	32.6 aA
藤系 180 Toukei 180	6.80 cCB	74.3 aA	382.2 aA	215.2 aA	-133.2 dD
富士光 Fujihikari	6.75 cC	73.3 aA	325.9 bB	133.5 bB	-5.7 cC
东农 415 Dongnong 415	7.86 aA	61.3 bB	288.5 dD	102.7 cC	24.3 bA

数据后带相同大小写字母者表示差异在 0.01 和 0.05 水平不显著。下表同。

Data followed by the same uppercase and lowercase letters indicate no significant difference at 0.01 and 0.05 levels, respectively. The same as in the tables below.

表 2 灌浆成熟期品种间籽粒谷氨酰胺合成酶活性多重比较

Table 2. Multiple comparisons of grain glutamine synthetase activity at the filling stage.

OD/(grain · h)

品种 Variety	抽穗后天数 Days after heading					
	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d	35 d
水陆稻 1 号 Shuiludao 1	0.0271 aA	0.0301 aA	0.0243 aA	0.0184 bBD	0.0143 bcBCD	0.0115 bcB
藤系 180 Toukei 180	0.0156 cC	0.0211 cCd	0.0255 aA	0.0225 aA	0.0187 aA	0.0151 aA
富士光 Fujihikari	0.0184 bBC	0.0224 bBd	0.0252 aA	0.0202 bAB	0.0160 bAC	0.0126 bAB
东农 415 Dongnong 415	0.0202 bB	0.0241 bB	0.0199 bB	0.0160 cCD	0.0128 cD	0.0102 cB

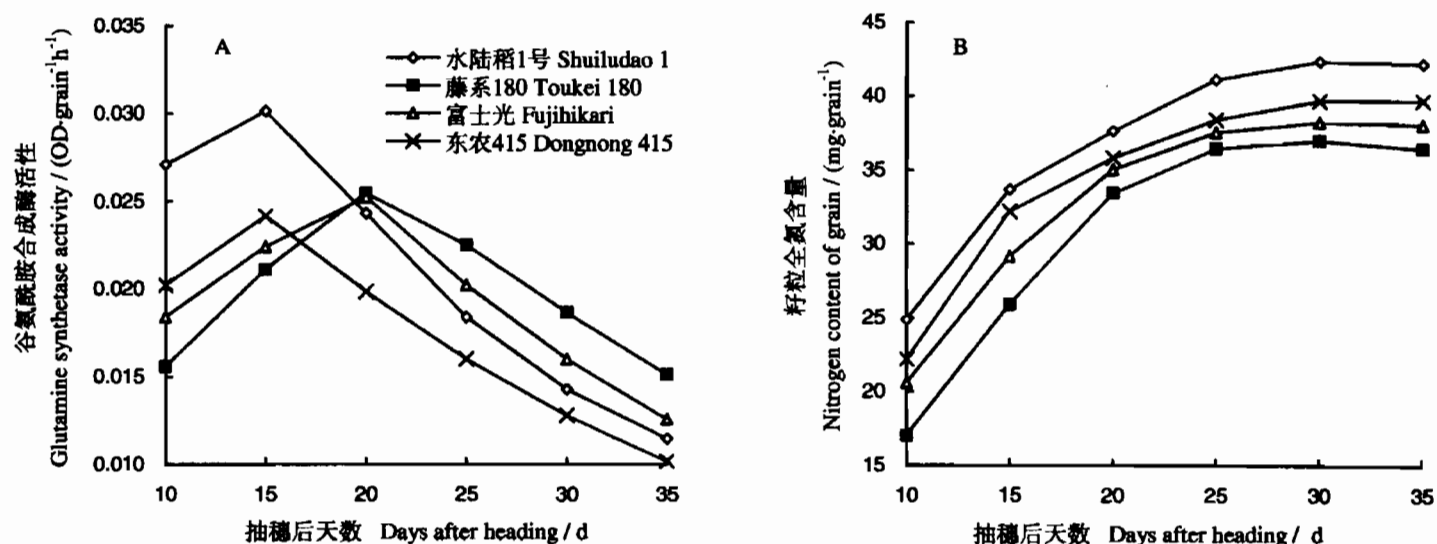


图1 灌浆成熟期籽粒谷氨酰胺合成酶活性和全氮含量的变化

Fig. 1. Changes of glutamine synthetase activity and nitrogen content in rice grain at the filling stage.

氮含量变化趋势基本一致,表现为灌浆前期籽粒全氮含量迅速增加,而抽穗25 d后增势减缓。在整个灌浆过程中,水陆稻1号和东农415全氮含量始终显著高于或略高于藤系180和富士光(表3)。说明灌浆成熟期籽粒蛋白质含量高的品种全氮积累的速率和量始终高于蛋白质含量低的品种。

2.3 谷氨酰胺合成酶活性与蒸煮食味品质关系

根据4个供试品种灌浆成熟期谷氨酰胺合成酶活性和稻米蒸煮食味品质性状的测定值,计算灌浆各时期彼此间的简单相关系数,其结果列于表4。

由表4可知,灌浆前期(抽穗15 d)籽粒谷氨酰胺合成酶活性与味度值、最高黏度、崩解值呈负相关,与籽粒最终蛋白质含量和消减值呈正相关;灌浆中、后期(抽穗20~35 d)籽

粒谷氨酰胺合成酶活性与味度值、最高黏度、崩解值呈正相关,与籽粒最终蛋白质含量和消减值呈负相关,其相关程度随灌浆时段而发生变化,如与最高黏度间的相关,由不显著变成显著或极显著等。说明灌浆成熟期籽粒谷氨酰胺合成酶活性与稻米蒸煮食味品质有一定关系,灌浆前期籽粒谷氨酰胺合成酶活性高可能不利于提高蒸煮食味品质。抽穗后15~20 d是籽粒谷氨酰胺合成酶活性与味度值和RVA谱特性间的相关性质发生变化的转折时期。

3 讨论

稻米品质的形成过程实质是碳、氮及脂肪代谢的过程。光合产物的合成转运、籽粒灌浆动态及关键酶作用与稻米品

表3 灌浆成熟期品种间籽粒全氮含量多重比较

Table 3. Multiple comparisons of grain nitrogen content at the filling stage.

品种 Variety	抽穗后天数 Days after heading					
	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d	35 d
水陆稻1号 Shuiludao 1	21.87 aA	33.69 aA	37.67 aA	41.10 aA	42.36 aA	42.22 aA
藤系180 Toukei 180	17.03 cC	25.90 cC	33.45 bBC	36.49 bB	37.03 cB	36.49 cB
富士光 Fujihikari	20.57 bB	29.16 bBC	35.06 bAC	37.57 bB	38.28 bcB	38.10 bcB
东农415 Dongnong 415	22.19 bAB	32.20 aAB	35.86 abAC	38.42 bAB	39.71 bAB	39.71 bAB

表4 水稻灌浆不同时期籽粒谷氨酰胺合成酶活性与蛋白质含量、味度值和RVA谱特性间的相关系数

Table 4. Coefficients of correlation between activity of glutamine synthetase and protein content, taste meter value, RVA properties of rice grain at the filling stage.

抽穗后天数 Days after heading/d	蛋白质含量 Protein content	味度值 Taste meter value	最高黏度 Peak viscosity	崩解值 Breakdown	消减值 Setback
10	0.4061	-0.9201	-0.6365	-0.7511	0.7614
15	0.3885	-0.9219	-0.5656	-0.6817	0.6894
20	-0.9610*	0.5047	0.7375	0.5899	-0.5237
25	-0.9204	0.7536	0.9598*	0.8943	-0.8546
30	-0.8616	0.7864	0.9870*	0.9493*	-0.9201
35	-0.8316	0.7512	0.9954**	0.9600*	-0.9347

*, ** 分别表示5%和1%显著水平。

*, ** Significant at 0.05 and 0.01 levels.

质形成密切相关^[11]。谷氨酰胺合成酶是处于氮代谢中心的多功能酶,而水稻是典型的喜铵植物,所以谷氨酰胺合成酶在水稻氮素营养过程中乃至产量的形成过程中起着关键性的作用。孙国荣等^[12]研究结果表明,不同基因型水稻不同生育期功能叶片的谷氨酰胺合成酶活性在分蘖盛期与每穗总粒数、每穗实粒数、每穗实粒重,在孕穗期与千粒重呈显著负相关,在抽穗期与每穗总粒数、在孕穗期与每穗实粒数和每穗实粒重呈显著正相关。朱红梅等^[13]研究结果表明,水稻高蛋白基因型品种功能叶的谷氨酰胺合成酶活性明显高于低蛋白基因型品种。唐湘如等^[14]研究结果表明,水稻产量和蛋白质含量均高的品种超丰早 1 号具有成熟后期叶片和籽粒的全氮、蛋白氮和非蛋白氮及其谷氨酰胺合成酶活性高的特性,从而促进籽粒蛋白质含量和产量增加。本试验结果表明,水稻灌浆过程中籽粒谷氨酰胺合成酶活性变化呈单峰曲线,随灌浆进程酶活性逐渐增加,达到峰值后酶活性又逐渐下降,杨文钰等^[2]也得到同样的结果。灌浆过程中籽粒谷氨酰胺合成酶活性变化与籽粒全氮含量变化并不同步,在灌浆前期蛋白质含量高的品种其籽粒谷氨酰胺合成酶活性大于蛋白质含量低的品种,而灌浆中、后期与之相反。但灌浆成熟期籽粒蛋白质含量高的品种其籽粒全氮含量始终高于蛋白质含量低的品种。因此,蛋白质含量不同的品种灌浆成熟期籽粒氮代谢机理可能有差异,对此有待于深入研究。

本试验简单相关分析结果表明,籽粒谷氨酰胺合成酶活性与味度值、最高黏度、崩解值间在灌浆前期呈负相关,而在灌浆中、后期呈正相关,与籽粒蛋白质含量和消减值间在灌浆前期呈正相关,而灌浆中、后期呈负相关。虽然本试验供试的品种并不多,而且很多时段相关没达到显著水平,但相关系数都较大,而且有些时段相关达到显著或极显著水平。唐湘如等^[5,15]研究结果也表明,增施氮肥或降低密度都会提高叶片和籽粒的谷氨酰胺合成酶活性,从而提高籽粒蛋白质含量。这就说明谷氨酰胺合成酶活性大小与稻米蒸煮食味品质有一定关系。由于蛋白质含量与稻米蒸煮食味品质关系很密切^[7-9],因此谷氨酰胺合成酶可能是通过蛋白质合成代谢对水稻蒸煮食味品质起调控作用。谷氨酰胺合成酶对水稻产量和品质的形成都有重要的调控作用,深入研究这一调控机理对水稻优质高产栽培和育种有重要的理论及实践指导意义。

参考文献:

- [1] Mifflin B J, Lea P J. Ammonia assimilation// Mifflin B J. The Biochemistry of Plants. Vol. 5. New York: Academic Press, 1980: 169-202.
- [2] 杨文钰, 项祖芬, 任万君, 王小春. 烯效唑对水稻氮代谢及稻米蛋白质含量的影响. 中国水稻科学, 2005, 19(1): 63-67.
- [3] 李科, 卢向阳, 彭丽莎, 刘强. 羧甲基壳聚糖对水稻氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响. 湖南农业大学学报, 2001, 27(6): 421-424.
- [4] 唐湘如, 余铁桥. 磷钾肥对饲用稻产量和蛋白质含量的影响及其机理研究. 中国农业科学, 2002, 35(4): 372-377.
- [5] 唐湘如. 施氮对饲用杂交稻产量和蛋白质含量的影响及其机理研究. 杂交水稻, 2000, 15(2): 34-37.
- [6] 王月福, 于振文, 李尚霞, 余松烈. 氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响. 作物学报, 2002, 28(6): 743-748.
- [7] Kim K H. Research status and prospects in rice quality. *Korean J Crop Sci*, 1988, 33(1): 1-17. (in Korean with English abstract)
- [8] Lim S J, Kim D U, Sohn J K, Lee S K. Varietal variation of amylogram properties and its relationship with other eating quality characteristics in rice. *Korean J Breeding*, 1995, 27(3): 268-275. (in Korean with English abstract)
- [9] Matsue Y. Differences in amylose content, amylographic characteristics and storage proteins of grain on primary and secondary rachis branches in rice. *Jpn J Crop Sci*, 1995, 64(3): 601-606. (in Japanese with English abstract)
- [10] 沈鹏, 金正勋, 罗秋香. 水稻灌浆过程中籽粒淀粉合成关键酶活性与蒸煮食味品质的关系. 中国水稻科学, 2006, 20(1): 58-64.
- [11] 黄发松. 食用稻米品质形成研究的现状与展望. 中国水稻科学, 1998, 12(3): 172-176.
- [12] 孙国荣, 朱鹏, 刘文芳, 肖翊华. 谷氨酰胺合成酶活性与水稻杂种优势预测. 武汉植物学研究, 1994, 12(2): 149-153.
- [13] 朱红梅, 荣湘民, 刘强, 彭建伟. 不同基因型水稻籽粒蛋白质含量差异的研究. 湖南农业大学学报, 2001, 27(1): 13-16.
- [14] 唐湘如, 官春云, 余铁桥. 不同基因型水稻产量和品质的物质代谢研究. 湖南农业大学学报, 1999, 25(4): 279-282.
- [15] 唐湘如, 余铁桥. 密度对饲用杂交稻几种酶活性的影响及其与产量和蛋白质含量的关系. 杂交水稻, 2001, 16(6): 47-49.