

氮素穗肥对高温胁迫下水稻结实和稻米品质的影响

段骅^{1,2} 傅亮¹ 剧成欣¹ 刘立军¹ 杨建昌^{1,*}

(¹扬州大学 江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏 扬州 225009; ²天津市农作物研究所, 天津 300112; * 通讯联系人, E-mail: jcyang@yzu.edu.cn)

Effects of Application of Nitrogen as Panicle-promoting Fertilizer on Seed Setting and Grain Quality of Rice under High Temperature Stress

DUAN Hua^{1,2}, FU Liang¹, JU Cheng-xin¹, LIU Li-jun¹, YANG Jian-chang^{1,*}

(¹Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology of Jiangsu Province, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; ²Tianjin Crop Institute, Tianjin 300112, China; * Corresponding author, E-mail: jcyang@yzu.edu.cn)

DUAN Hua, FU Liang, JU Chengxin, et al. Effects of application of nitrogen as panicle-promoting fertilizer on seed setting and grain quality of rice under high temperature stress. *Chin J Rice Sci*, 2013, 27(6): 591-602.

Abstract: Effects of application of nitrogen as panicle-promoting fertilizer on grain yield and quality was studied with two mid-season rice cultivars, Huhan 15 (indica) and Yangjing 4038 (japonica) grown in pots as materials under three nitrogen fertilizer levels, low nitrogen level (LN, 0.5 g urea per pot), medium nitrogen level (MN, 1.0 g urea per pot), and high nitrogen level (HN, 2.0 g urea per pot) at the panicle initiation stage under high temperature. Both high temperature (mean temperature during the day/night at 35.1°C/20.8°C) and normal temperature (mean temperature during the day/night at 29.0°C/20.8°C) treatments were conducted during heading and grain filling. The grain yield and rice quality were investigated under these treatments. The results showed that at the same temperature, especially under high temperature, compared with the LN, the MN and HN significantly increased spikelet number per panicle, seed-setting rate, 1000-grain weight, grain yield, head rice rate and short chain percentage in debranched amylopectin, and reduced chalky grains and long chain in debranched amylopectin, especially at MN. Application of panicle-promoting fertilizer also increased the photosynthetic rate of flag leaf, root oxidation activity, and activities of the key enzymes involved in sucrose-to-starch metabolic pathway in grains in the two cultivars. These results indicate that proper application of nitrogen as panicle fertilizer could maintain a higher grain yield and better quality of rice when subjected to high temperature during heading and grain filling, and increases in root and shoot activities contribute to the reducing adverse effects of high temperature on rice yield and quality.

Key words: rice; high temperature; nitrogen; grain yield; quality

段骅, 傅亮, 剧成欣, 等. 氮素穗肥对高温胁迫下水稻结实和稻米品质的影响. *中国水稻科学*, 2013, 27(6): 591-602.

摘要: 以中熟籼稻品种沪早 15 和中熟粳稻品种扬梗 4038 为材料, 利用盆栽试验, 在水稻穗分化期设置低氮(每盆 0.5 g 尿素)、中氮(每盆 1.0 g 尿素)和高氮(每盆 2.0 g 尿素)3 种施氮量水平, 在抽穗灌浆期进行高温(白天/夜间平均温度为 35.1°C/20.8°C)和正常温度(白天/夜间平均温度为 29.0°C/20.8°C)处理, 探讨了氮素穗肥对水稻高温灌浆过程及其产量和品质的影响。结果表明, 在高温胁迫下, 中氮和高氮显著增加每穗粒数、结实率、千粒重和产量, 增加整精米率和支链淀粉短链比例, 降低垩白米率和支链淀粉中长链的比例, 其中, 中氮效果更为明显。施用氮素穗肥还增加了叶片光合速率、根系氧化力和籽粒中蔗糖-淀粉代谢途径关键酶活性。说明抽穗结实期遭受高温胁迫, 在穗分化期适当施用氮肥可以获得较高的产量和较好的稻米品质, 根系和冠层生理活性的提高是其重要原因。

关键词: 水稻; 高温; 氮素; 产量; 品质

中图分类号: Q945.78; S143.1; S511.01

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2013)06-0591-12

稻米品质既受遗传控制, 又受环境因素的制约, 包括水稻生长期间的气候条件、栽培措施和其他生态条件等多方面^[1]。在气候条件中, 温度对水稻的产量和品质影响最大^[2-4]。已有研究表明, 生殖生长期遭遇高温胁迫可造成产量严重下降, 品质变劣^[4-5]。高温胁迫对水稻籽粒灌浆充实过程和稻米垩白等品质性状的影响, 与高温胁迫下水稻籽粒灌浆速率加快、光合效率下降、膜系统机能损伤、根系

期遭遇高温胁迫可造成产量严重下降, 品质变劣^[4-5]。高温胁迫对水稻籽粒灌浆充实过程和稻米垩白等品质性状的影响, 与高温胁迫下水稻籽粒灌浆速率加快、光合效率下降、膜系统机能损伤、根系

收稿日期: 2013-04-17; 修改稿收到日期: 2013-06-12。

基金项目: 国家自然科学基金国际重大合作项目(31061140457); 国家自然科学基金资助项目(31271641, 31071360); 国家公益性行业(农业)科研专项(201103003, 201203079); 国家科技支撑计划资助项目(2011BAD16B14); 江苏高校优势学科建设工程专项。

活力降低、茎鞘物质转运受阻、胚乳中淀粉结构、胚乳细胞相关酶的生理活性变化等生理因素均存在着一定联系^[6-11]。减轻高温胁迫的途径除了不断培育优良的耐热品种外,利用栽培措施来尽可能减轻高温天气的危害也是一条重要途径。氮素是影响水稻产量和品质的重要因素,有研究报道,通过合理施肥,可以降低植株穗叶和冠层温度,以提高水稻抗热害能力^[12-13]。适当增施氮肥,还有利于增加水稻的吸氮量、干物质积累量,有助于水稻产量的提高及稻米品质改良^[14-15]。另外,氮素代谢还是叶绿体内依赖于光合电子传递、仅次于CO₂同化的另一重要反应,因此,氮素营养会对高温逆境条件下的植物光合作用产生一定影响^[16]。有研究表明^[17-18],氮素营养可以通过提高小麦叶片的光合能力和活性氧的清除能力,提高叶片对高温逆境的适应能力。在高温条件下,氮肥对水稻产量和稻米品质有何影响?能否通过增施氮肥来减轻高温对水稻的负面效应?这方面研究较少。本研究通过设置不同氮素穗肥水平,在抽穗期测定剑叶光合速率、根系活力、籽粒蔗糖含量和蔗糖-淀粉代谢途径关键酶活性,分析在抽穗期高温胁迫下增施氮肥对水稻产量、品质和淀粉结构的影响,旨在探求运用栽培措施,减轻高温对水稻产量和品质不利影响的技术途径,为水稻高产优质与抗逆栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与栽培情况

试验于2012年在扬州大学农学院实验盆栽场进行。供试品种为中熟籼稻沪早15和中熟粳稻扬粳4038。5月12日播种,大田育秧,6月12日移栽至盆钵。盆钵直径25 cm,高30 cm,内装过筛土约13 kg,含有机质2.32%,有效氮95.2 mg/kg,速效磷22.5 mg/kg,速效钾82.6 mg/kg。每盆3穴,每穴2苗。移栽前每盆施2 g尿素和0.5 g KH₂PO₄作基肥,移栽后7 d每盆施0.5 g尿素,其余管理按常规高产栽培。

1.2 氮肥及高温处理

在穗分化期(叶龄余数为1.2~1.5时)设置3种氮肥处理:1)低氮肥处理,每盆施0.5 g尿素(LN);2)中氮肥处理,每盆施1.0 g尿素(MN);3)高氮肥处理,每盆施2.0 g尿素(HN)。

于始穗期(10%抽穗)将生长于室外的稻株移至

人工气候室内高温处理10 d,每处理20盆。处理期结束将稻株移至室外继续生长。采用浙江求是公司生产的人工气候室控制温度,人工气候室内模拟自然界变化规律,进行恒定控制和渐变控制(变化过程为连续曲线,非阶梯式变化曲线),设定温度如下:6:00—8:00,29.0℃;8:00—10:00,33.0℃;10:00—14:00,37.5℃;14:00—18:00,33.0℃;18:00—19:00,29.0℃;19:00—次日6:00,28.0℃,温度控制精度±0.5℃。按照当地抽穗开花期的湿度、光照和CO₂浓度。CO₂浓度为(380±20) μmol/mol;光照分别为8:00—10:00,600~900 μmol/(m²·s);10:00—14:00,900~1200 μmol/(m²·s);14:00—18:00,900~600 μmol/(m²·s);18:00至次日6:00,关闭光照。处理期间日平均温度为31.4℃,对照(气象站测得数据)为28.5℃。根据作者于2009—2011年对扬州试验地水稻抽穗开花期湿度的测定,在晴天,白天室外相对湿度为40%~60%,2012年抽穗开花期是晴天,所以,将人工气候室的湿度控制在50%±5%。处理期间日平均温度为31.4℃,对照(气象站测得数据)为28.5℃。温度处理间不同处理的温度(平均值)日变化曲线见图1。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 剑叶光合速率测定

于高温处理8 d后采用美国LI-6400便携式光合仪测定水稻叶片光合速率和气孔导度。测定条件为开放系统,叶室CO₂浓度为380 μmol/mol,使用红蓝光源测定,光量子通量密度(PFD)为1200 μmol/(m²·s),温度为28℃~30℃。在测定时,选择无云或少云的晴天,测量时间为上午9:30—11:30,选取叶片取向或着生角度一致的剑叶中部,测定过程中尽量保持叶片原来状态,包括位置、角度等,各处理重复测定6叶。

1.3.2 籽粒蔗糖含量、蔗糖-淀粉代谢途径关键酶活性测定和根系氧化力测定

于抽穗期从用以测产以外的12盆稻株中选取生长整齐一致、同日始花的穗子200个,标记开花日期,自花后5 d至花后35 d每隔5 d,取挂牌单穗,取样时间为12:00。摘下穗中部籽粒,置液氮中冷冻1 min后保存于-80℃超低温冰箱中,用于测定籽粒蔗糖含量和蔗糖-淀粉代谢途径关键酶活性。

30~40粒去壳籽粒加3~5 mL 100 mmol/L Tricine-NaOH提取液[pH 8.0,含有10 mmol/L

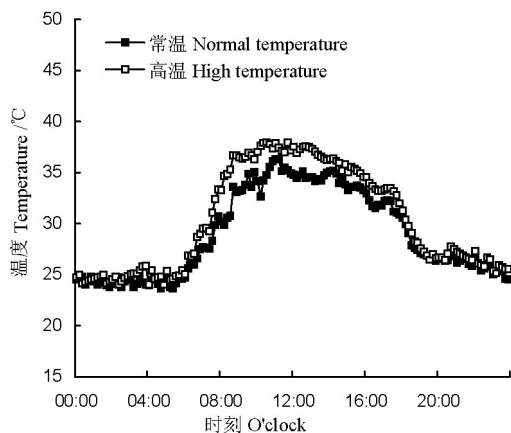


图1 水稻抽穗灌浆早期高温处理期间的温度日变化

Fig. 1. Daily change of temperature during heading and early grain filling stages.

MgCl₂, 2 mmol/L EDTA, 50 mmol/L 乙-巯基乙醇, 体积分数为 12% 的丙三醇, 质量体积分数为 5% 的 PVP 40], 于研钵中研磨(温度保持在 0°C), 15 000 × g 下离心 5 min(4°C), 上清液(粗酶液)用于各酶活性测定。酶的活性测定方法参照 Yang 等^[19-20]的方法。蔗糖含量测定参照 Yoshida 等^[21]的方法。

于高温处理的第 8 天, 取测产以外的 3 盆稻株(每盆为 1 个样本, 3 次重复), 剪去地上部植株, 将盆钵中的根倒于纱布上, 先用流水冲洗, 然后用农用压缩喷雾器将根冲洗干净, 采用 α-萘胺(α-NA)法^[22]测定根系氧化力, 单位为 μg/(g · h)。

1.3.3 水稻淀粉的提取、脱脂和支链淀粉的去分支

淀粉的提取参照 Zhu 等^[23]方法并稍加改进。称取 10 g 整精米至离心管, 用超纯水浸泡过夜(用 1 mol/L NaOH 调节 pH 到 8.0~8.5), 去除上清液, 加入 1 mmol/L NaOH, 匀浆机搅拌 3 min, 加入等体积 1 mmol/L NaOH, 调节 pH 至 9.5(1 mol/L NaOH), 加 0.5% 碱性蛋白酶(质量分数为 5 mg/g)浸泡 2 h, 调节并保持 pH 至 9.5, 40°C~45°C 下超声 25 min, 用 75 μm 筛网过滤, 丢弃筛网上的固体物质, 分成两管, 蒸馏水洗, 3000 × g 下离心 20 min, 去掉表面黄色物质(蛋白酶), 合并沉淀, 超纯水洗, 3000 × g 下离心 15 min, 重复 3 次, 95% 乙醇洗, 3000 g 离心 15 min, 重复 3 次, 然后置于 40°C 烘箱烘干 48 h。

脱脂: 称 1 g 烘干样品, 加入 CHCl₃ 和甲醇各 15 mL, 置于 45°C 水浴锅内水浴 30 min, 9000 r/min

下离心 15 min, 沉淀用 15 mL 甲醇+15 mL 丙酮洗脱, 9000 r/min 下离心 15 min, 40°C 下烘 48 h, 得到脱脂脱蛋白淀粉, 检查蛋白质含量 < 0.5%。

去分支: 称取 20 mg 上述干粉至 12 mL 样品瓶中, 加 10 mL 0.01 N NaAc(pH 4.2), 沸水浴, 搅拌 1 h, 冷至室温, 加异淀粉酶 1250 U/mg, 40°C~45°C 下水浴过夜, 沸水浴 10 min 灭活(不可缓慢加热至沸水), 冷阱冻干(12 h)。

1.3.4 凝胶渗透色谱(GPC)

流动相制备: 0.5 mol/L NaNO₃ 溶于 DMSO(二甲基亚砷), 溶液用 0.45 μm 过滤器过滤, 将 10 mL 0.5 mol/L NaNO₃ 稀释至 1 L 纯 DMSO 中。

样品的制备: 称取 4 mg 样品于瓶中, 加入 4 mL 纯 DMSO(高效液相色谱级别)中, 沸水浴中搅拌水浴 24 h, 确保样品全部溶解。将溶液用 2 μm 过滤器过滤, 将过滤后的溶液密封到 GPC 瓶中。

利用凝胶色谱仪 GPC(PL-GPC 220, Polymer laboratories varian, Inc. Amherst, MA)对原淀粉和去分支的淀粉进行分子量分布分析。色谱柱为 Polargel-M, 300×7.5 mm, Plgel 10 μm MIXED-B, 300×7.5 mm, Plgel 3 μm MIXED-B, 300×7.5 mm。

1.3.5 考种与计产

于成熟期各处理取 8 盆计产, 取 3 盆用于考种, 考查每盆穗数、每穗粒数、千粒重、结实率。

1.3.6 品质测定

将测产的稻谷存放 3 个月后用于米质测定。测定前各处理统一用 NP4350 型风选机等风量风选, 剔除空秕粒。参照中华人民共和国国家标准《GB/T17891—1999 优质稻谷》测定出糙率、精米率、整精米率、垩白米率、垩白度、胶稠度、直链淀粉和蛋白质含量^[24]。采用澳大利亚 Newport Scientific 仪器公司生产的 Super3 型 RVA(Rapid Viscosity Analyzer)快速测定淀粉谱黏滞特性。

1.3.7 数据分析

采用 Office 2003 软件处理数据、表及文字, 其中部分数据用 SPSS 19.0 统计分析, 用 $P = 0.05$ 最小显著极差法(LSD_{0.05})进行平均数显著性检验。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫下施氮量与产量及其构成因素的关系

由表 1 可知, 产量在供试品种、温度处理和氮

肥处理间存在极显著差异。从产量构成因素分析,产量在不同处理间的差异主要来自每穗粒数、结实率和千粒重的不同。千粒重在品种×氮肥、温度×氮肥、品种×温度×氮肥间还存在显著或极显著互作效应,说明氮肥对千粒重的影响因品种或温度的不同而有显著差异。每穗粒数在品种×氮肥间存在极显著互作效应。品种×温度、温度×氮肥以及品种×温度×氮肥对产量及其构成因素影响的互作效应不显著。

在常温下,与低氮相比,两供试品种在中氮和高氮处理上均提高产量,但沪早 15 虽然产量也有所提高,但差异并不显著。而在高温下,中氮和高氮均显著增加产量,但氮肥水平过高产量反而会降低(表 2)。由于氮肥处理及高温处理自穗分化期才开始,因此,中氮和高氮对每盆穗数无显著影响。高温下随施氮量的增加,每穗粒数、结实率和粒重的增加是产量增加的主要原因。在同一施氮水平下,与常温相比,高温处理显著降低产量,其原因主要是每穗粒数、结实率和粒重降低。

2.2 高温胁迫下施氮量与稻米品质的关系

无论是在正常温度还是在高温下,与低氮相比,中氮和高氮均显著提高两品种的整精米率,其中又以中氮处理下整精米率最高。在常温下,中氮和高氮还显著提高沪早 15 的精米率;中氮和高氮对两供试品种出糙率无显著影响(表 3)。同一施氮水平下,与常温相比,高温显著降低两供试品种的整精米率,显著降低沪早 15 的精米率。表明高温胁迫下适度增施氮肥可以改善稻米的加工品质。

无论是高温还是常温,与低氮相比,中氮和高氮降低两供试品种垩白米率和垩白度[垩白米率降低最为显著(表 3)],增加稻米的胶稠度,降低直链淀粉含量,增加蛋白质含量,中氮处理变幅最为显著;相同施氮量下,与常温相比,高温显著增加两供试品种的垩白米率、直链淀粉含量,显著增加沪早 15 的垩白度,显著降低扬粳 4038 的胶稠度。

利用凝胶渗透色谱仪(GPC)分析两个提纯淀粉的分子量分布情况。由图 2-A 可以看出,由于原淀粉中的直链淀粉分子量和支链淀粉分子量差异很大,因此,可以明显地分为两个峰,其中较小分子量是直链淀粉部分,较大分子量是支链部分。由于天然淀粉的分子量非常大,通过常规技术难以对其分析,所以我们利用异淀粉酶对提纯的淀粉进行去分支处理后进行了凝胶渗透色谱分析。图 2-B 是水稻籽粒支链淀粉经异淀粉酶脱支后,检测得到的典型色谱分布。共有三个峰,依据分子量分布将其分为 3 个部分:短链、中长链、直链淀粉。左边第一个峰(F1)是被酶解的支链淀粉的短链,包括小分子的淀粉 A 链和短 B 链,中间的峰(F2)表示淀粉的长 B 链,右边的峰(F3)是未被酶解的直链淀粉。由图中可以看出,各组分中以短链所占比例最高,直链淀粉所占比例最低(表 4)。

从表 4 可以看出,在高温下短链比例下降,中长链比例上升,在同一温度下,随着施氮量增加,短链比例呈上升趋势,而中长链比例呈下降趋势,两供试品种趋势一致。将支链淀粉去分支后不同组分与稻米 RVA 谱特征值作相关分析,结果表明,支链淀粉

表 1 产量及其构成因素在品种、温度、氮肥间的方差分析
Table 1. Analysis-of-variance (*F*-values) for grain yield and yield components between/among cultivar, temperature, and nitrogen.

变异来源 Source of variation	<i>df</i>	产量 Yield	每盆穗数 Panicle number per pot	每穗粒数 Spikelet number per panicle	结实率 Seed-setting rate	千粒重 1000-grain weight
品种 Cultivar	1	270.25**	5.55*	1050.99**	331.05**	5928.51**
温度 Temperature	1	145.86**	0.02	88.62**	13.79**	40.57**
氮肥 Nitrogen	2	37.30**	0.96	33.29**	43.84**	13.08**
品种×温度 Cultivar×temperature	1	0.07	0.62	0.65	3.23	0.07
品种×氮肥 Cultivar×nitrogen	2	2.74	0.22	9.71**	1.29	3.31*
温度×氮肥 Temperature×nitrogen	2	2.96	0.47	1.89	1.34	8.00**
品种×温度×氮肥 Cultivar×temperature×nitrogen	2	3.05	0.02	2.55	0.41	13.88**

*, ** 分别表示在 $P=0.05$ 和 $P=0.01$ 水平上显著。
*, ** Significance at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

表 2 高温胁迫下施氮量对水稻产量及其构成因素的影响

Table 2. Effect of nitrogen level on grain yield and yield components under high temperature.

品种与处理 Cultivar and treatment	每盆穗数 Panicle number per pot	每穗粒数 Spikelet number per panicle	空粒率 Sterile spikelet rate/%	秕粒率 Partially filled grain rate/%	结实率 Seed-setting rate /%	千粒重 1000-grain weight /g	产量 Yield /(g·pot ⁻¹)
沪早 15 Huhan 15							
NT+LN	20.3 a	168.3 c	5.8 e	3.4 a	90.8 a	19.0 b	61.7 ab
NT+MN	20.8 a	180.6 a	7.0 d	3.5 a	89.5 ab	19.8 a	66.1 a
NT+HN	20.8 a	183.0 a	9.7 bc	3.9 a	86.4 c	19.5 a	64.9 a
HT+LN	20.5 a	155.7 d	15.4 a	4.2 a	80.4 d	18.0 c	46.2 c
HT+MN	20.3 a	176.1 ab	8.5 c	3.7 a	87.8 bc	19.8 a	62.1 ab
HT+HN	20.5 a	169.8 bc	10.9 b	4.0 a	85.1 c	19.6 a	57.9 b
扬粳 4038 Yangjing 4038							
NT+LN	19.3 b	139.0 b	1.0 b	2.1 a	96.9 a	28.0 b	72.5 b
NT+MN	20.0 ab	143.4 a	1.4 b	2.0 a	96.6 a	28.1 b	77.8 a
NT+HN	20.0 ab	138.6 b	5.8 a	2.3 a	91.9 b	29.1 a	74.1 b
HT+LN	19.8 ab	123.7 d	6.3 a	2.8 a	90.9 b	27.0 c	60.5 e
HT+MN	20.0 ab	131.0 c	2.2 b	2.1 a	95.7 a	27.8 b	69.6 c
HT+HN	20.3 a	130.4 c	5.8 a	2.5 a	91.7 b	27.6 b	66.9 d

同一栏同一品种内相同字母表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著。NT—正常温度；HT—高温；LN—低氮；MN—中氮；HN—高氮。
Values followed by common letters within the same column for a cultivar are not significantly different at $P = 0.05$ level. NT, Normal temperature; HT, High temperature; LN, Low nitrogen level; MN, Medium nitrogen level; HN, High nitrogen level.

表 3 高温胁迫下施氮量对稻米品质的影响

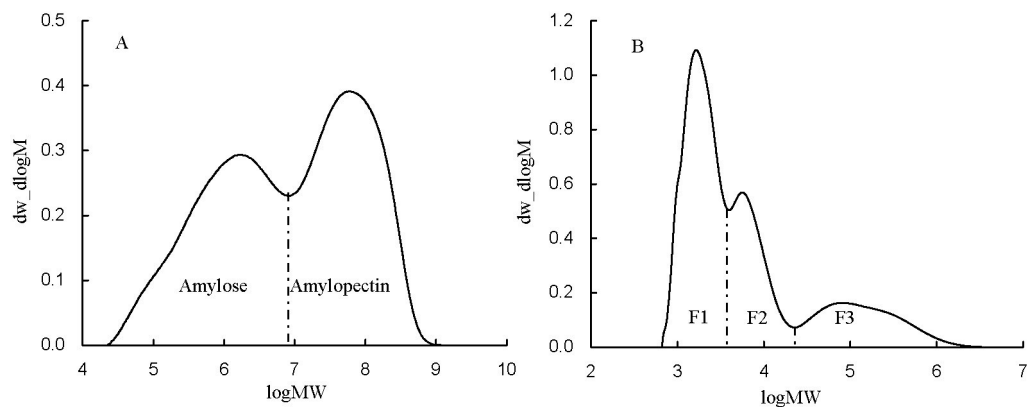
Table 3. Effect of nitrogen level on rice quality under high temperature.

品种与处理 Cultivar and treatment	出糙率 Brown rice rate/%	精米率 Milled rice rate/%	整精米率 Head rice rate/%	垩白米率 Chalky kernel rate/%	垩白度 Chalkiness /%	胶稠度 Gel consistency /mm	直链淀粉含量 Amylose content / %	蛋白质含量 Protein content/%
沪早 15 Huhan 15								
NT+LN	79.7 a	68.0 c	60.5 c	14.1 d	2.4 b	67.5 b	22.8 b	8.2 b
NT+MN	80.9 a	72.7 a	66.0 a	11.1 f	1.9 c	70.6 a	20.9 d	8.9 ab
NT+HN	80.9 a	72.2 a	64.8 b	13.1 e	2.2 b	69.8 a	21.6 c	8.5 b
HT+LN	79.1 a	71.1 b	39.2 f	18.6 a	3.2 a	67.2 b	23.3 a	8.9 ab
HT+MN	79.1 a	71.6 b	43.8 d	15.7 c	2.8 a	70.2 a	21.7 c	9.5 a
HT+HN	80.2 a	71.5 b	42.5 e	16.3 b	3.0 a	67.2 b	23.3 a	8.9 ab
扬粳 4038 Yangjing 4038								
NT+LN	82.8 a	75.2 a	63.7 d	19.8 b	4.4 b	84.3 ab	14.5 b	7.1 b
NT+MN	82.2 a	75.1 a	71.0 a	16.8 d	3.6 b	86.6 a	12.6 c	8.1 a
NT+HN	82.2 a	74.9 a	69.1 b	18.3 c	3.9 b	85.1 a	13.2 c	7.3 b
HT+LN	82.1 a	74.5 a	61.7 e	21.9 a	5.4 a	81.9 c	15.5 a	7.5 b
HT+MN	82.2 a	74.9 a	65.3 c	18.0 c	4.0 b	83.4 ab	14.2 b	8.7 a
HT+HN	82.2 a	74.8 a	63.3 d	19.5 b	4.4 b	82.5 bc	14.7 b	7.6 b

同一栏同一品种内相同字母表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著。NT—正常温度；HT—高温；LN—低氮；MN—中氮；HN—高氮。
Values followed by common letters within the same column for a cultivar are not significantly different at $P = 0.05$ level. NT, Normal temperature; HT, High temperature; LN, Low nitrogen level; MN, Medium nitrogen level; HN, High nitrogen level.

的短链部分与崩解值呈显著或极显著正相关,与消解值呈极显著负相关,中长链部分与消解值呈显著正相关,与崩解值呈显著负相关(表略)。支链淀粉中长链的比例越高,淀粉粒得不到充分的糊化,崩解

值降低,影响了稻米的食味性;相反,支链淀粉中短链比例高,利于淀粉粒的糊化,从而形成高的崩解值,稻米的食味性好。说明高温胁迫下,适当增施氮肥,可以改善稻米的食味品质。



F1—支链淀粉短链；F2—支链淀粉长链；F3—直链淀粉。
F1, Short chain of amylopectin; F2, Long chain of amylopectin; F3, Amylose.

图 2 水稻原淀粉与异淀粉酶去分支后的凝胶渗透色谱
Fig. 2. Typical gel permeation chromatograms of native starch and isoamylase-debranched amylose of rice starches.

2.3 高温胁迫下不同施氮量下生理特性的变化

无论是高温还是常温,中氮和高氮处理显著增加两供试品种剑叶光合速率(图 3)。相同施氮量下,与常温相比,高温显著降低两供试品种的剑叶光合速率。

由图 4 可见,同一施氮量下,高温显著降低水稻根系氧化力。两品种趋势一致。而同一温度下,不论常温或高温,与低氮相比,中氮和高氮处理显著增加水稻根系氧化力,但在高氮处理下根系氧化力与中氮相比有所降低,两供试品种趋势一致。表明在高温胁迫下,适度增施氮肥可以提高水稻根系活力。

由图 5 可见,随着籽粒灌浆进程推移,籽粒中蔗糖的含量呈现迅速下降的趋势,说明灌浆过程中蔗糖消耗很快,处理间差异显著,花后 20~25 d 下降变缓,处理间差异不显著。在相同施氮方式下,与常温相比,高温显著增加了籽粒蔗糖含量;在同一温度下,随施氮量的增加,籽粒蔗糖含量升高。

蔗糖合酶(SuS)的作用主要是催化籽粒中蔗糖降解为尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG)和果糖,SuS 活性变化呈单峰曲线(图 6),沪早 15 花后 10 d 到达高峰,之后迅速下降,扬粳 4038 在花后 15 d 到达高峰,之后迅速下降。同一施氮量下,高温胁迫造成籽

表 4 高温胁迫下施氮量对淀粉组分含量的影响
Table 4. Effect of nitrogen level on starch fraction contents under high temperature. %

品种名称 Cultivar	处理 Treatment	F1	F2	F3
沪早 15 Huhan 15	NT+LN	45.8 d	32.7 d	21.5 a
	NT+MN	48.3 a	31.3 e	20.4 b
	NT+HN	47.3 b	31.5 e	21.2 a
	HT+LN	42.9 e	36.1 a	21.1 a
	HT+MN	47.5 b	33.4 c	19.1 c
	HT+HN	46.9 c	34.4 b	18.6 c
扬粳 4038 Yangjing 4038	NT+LN	55.9 b	30.9 b	13.2 c
	NT+MN	62.7 a	24.3 e	13.0 c
	NT+HN	60.1 a	26.5 d	13.4 c
	HT+LN	49.3 c	35.7 a	15.0 a
	HT+MN	55.2 b	29.7 c	15.1 a
	HT+HN	54.8 b	30.7 b	14.5 b

同一栏同一品种内不同字母表示在 $P=0.05$ 水平上差异显著。NT—正常温度; HT—高温; LN—低氮; MN—中氮; HN—高氮。F1—支链淀粉短链; F2—支链淀粉长链; F3—直链淀粉。

Values followed by different letters within the same column for a cultivar are significantly different at $P = 0.05$ level. NT, Normal temperature; HT, High temperature; LN, Low nitrogen level; MN, Medium nitrogen level; HN, High nitrogen level. F1, Short chain of amylopectin; F2, Long chain of amylopectin; F3, Amylose.

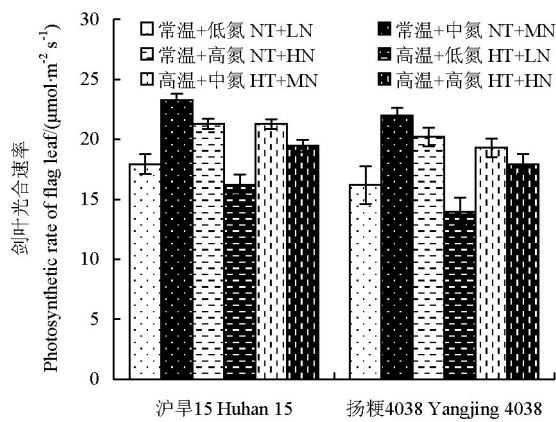


图 3 高温胁迫下施氮量对剑叶光合速率的影响
Fig. 3. Effects of N application amount on flag leaf photosynthetic rate of rice under high temperature.

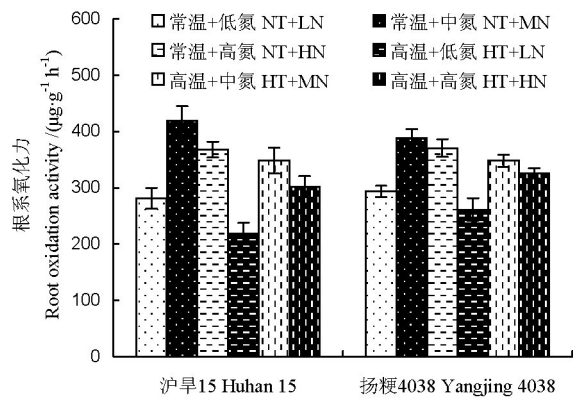


图 4 高温胁迫下施氮量对根系氧化力的影响
Fig. 4. Effects of N application amount on the activity of root under high temperature.

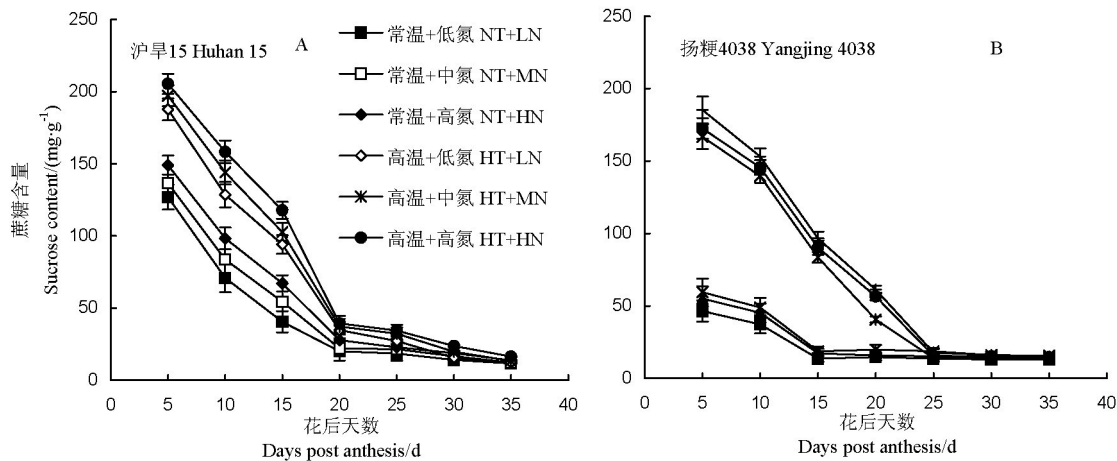


图 5 高温胁迫下施氮量对籽粒蔗糖含量的影响
Fig. 5. Effects of N application amount on sucrose content of grain under high temperature.

粒 SuS 活性显著下降,同一温度下,随施氮量的增加,蔗糖合酶活性明显增加。

由图 7-A~B 可见,两供试品种胚乳腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGP)活性随籽粒灌浆进程逐渐增加,在花后 15 d 到达高峰,之后迅速下降。高温显著降低胚乳 AGP 活性,但在不同品种之间存在差异。沪早 15 在不同温度或不同氮肥处理下 AGP 活性变化很小或基本不变,扬粳 4038 的 AGP 活性则变化较大。在常温下,与低氮相比,中氮和高氮在花后 20 d AGP 活性显著增强,造成高峰后移,但高氮在高峰过后迅速降低,低于其他处理,而中氮处理在高峰过后仍能维持较高的 AGP 活性。在高温下,与低氮相比,中氮和高氮同样增强 AGP 活性,但高氮下 AGP 活性在花后 10 d 升幅较大,造成高峰前移,但在高峰过后同样下降,低于低氮处理。

胚乳淀粉合酶(StS)活性与 AGP 活性趋势相似,花后 15 d 到达高峰,之后迅速下降(图 7-C, 图 7-D)。高温显著降低胚乳 StS 活性,扬粳 4038 变化幅度较沪早 15 更大。在常温下与低氮相比,中氮和高氮在花后 20 d 显著增强 StS 活性,造成高峰后移,在高温下,与低氮相比,中氮显著增强了 StS 活性,而高氮则显著降低了 StS 活性。

由图 7-E~F 可见,两品种淀粉分支酶(SBE)活性变化趋势较为一致,即随籽粒灌浆进程 SBE 活性逐渐增加,花后 20 d 到达高峰,之后迅速下降。常温下,随施氮量的增加,SBE 活性均显著增加,在高温下两品种间略有不同,沪早 15 SBE 活性氮肥处理之间大小顺序为中氮>高氮>低氮,而扬粳 4038

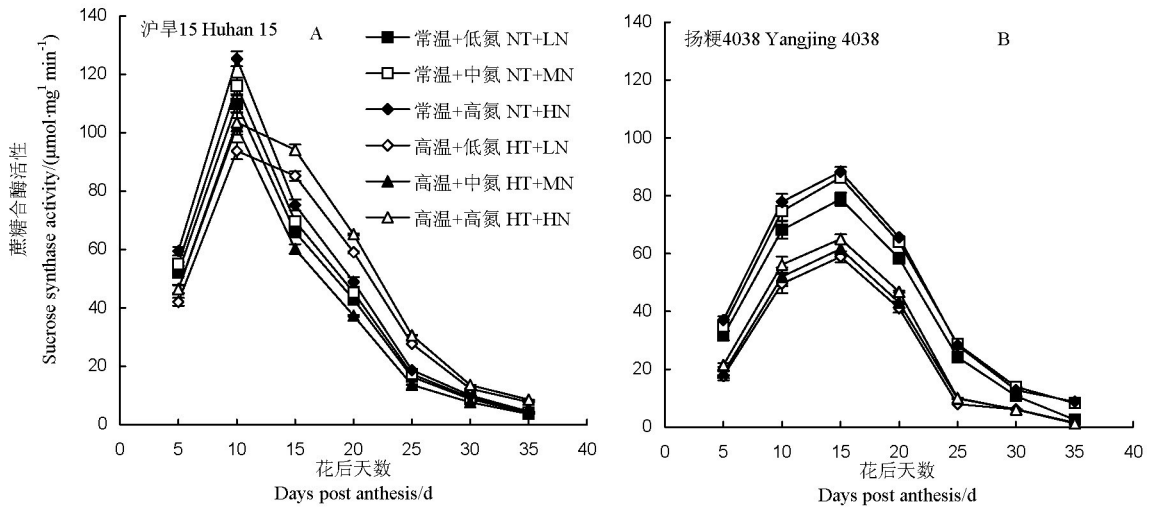


图 6 高温胁迫下施氮量对籽粒蔗糖合酶(SuS)活性的影响
Fig. 6. Effects of N application amount on sucrose synthase (SuS) activity of grain under high temperature.

大小顺序为高氮>中氮>低氮。

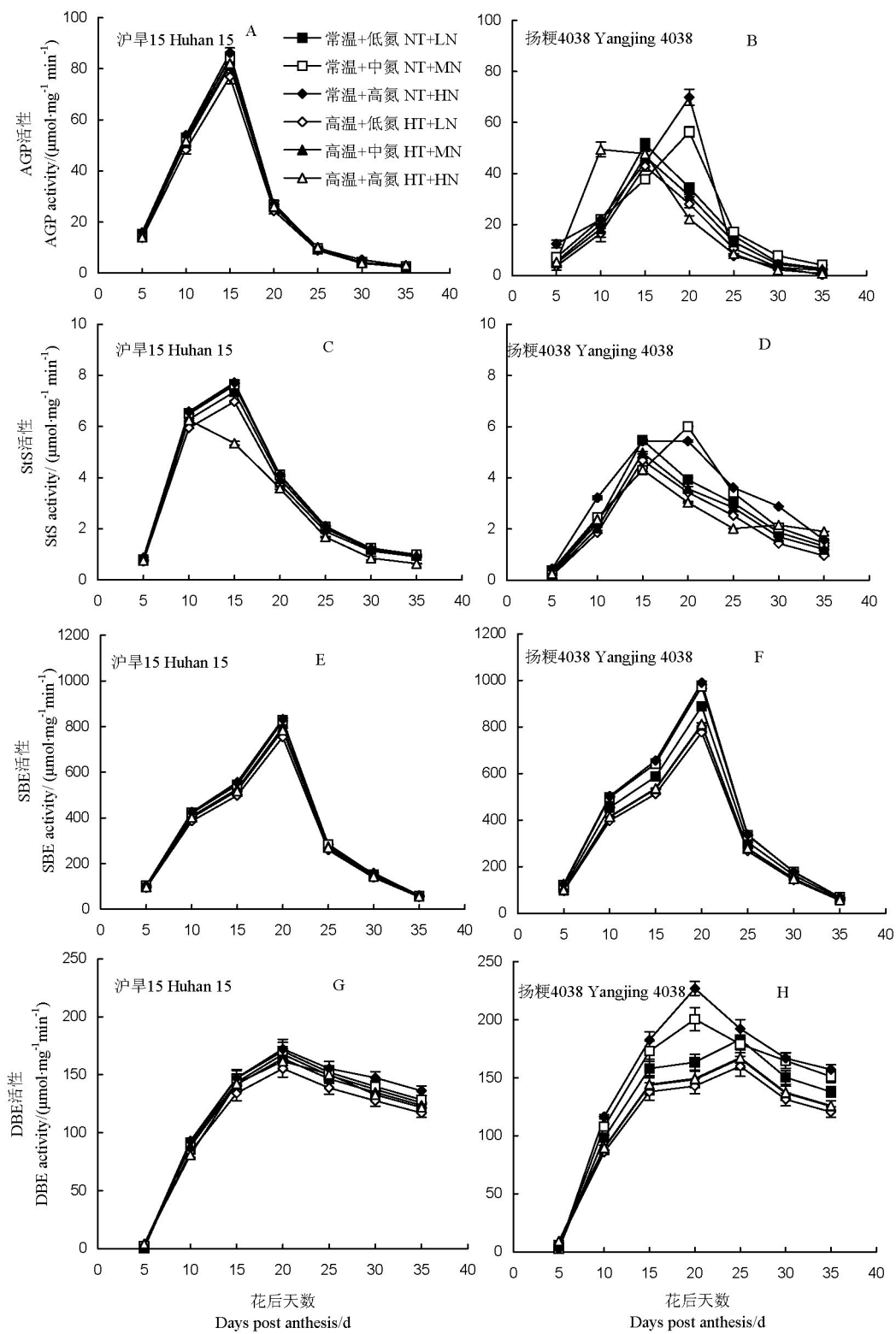
图 7-G~H 表明,各供试品种籽粒灌浆期间胚乳淀粉脱支酶(DBE)活性均在花后 20~25 d 到达高峰,高峰过后 DBE 活性缓慢下降,同一品种高温胁迫处理与对照同期相比,DBE 活性在高温处理期间(花后 0~10 d)几乎无变化或下降幅度很小,处理过后沪旱 15 略低于对照,扬粳 4038 处理过后 DBE 活性表现为大幅度下降,且在花后 25 d 到达高峰期,到花后 35 d 活性依然很高。由此看来,高温胁迫或氮肥处理对胚乳 DBE 活性的影响是滞后的。在常温下,沪旱 15 胚乳 DBE 活性随施氮量增加而增加,扬粳 4038 在花后 5~20 d 随施氮量增加而增加,且将高峰值提前到花后 20 d,在高温下,两品种 DBE 活性均随施氮量增加而增强。

3 讨论

随着全球气候的变暖,水稻高温危害问题正日益引起世界的广泛关注。抽穗至成熟阶段高温会加快灌浆速率,缩短灌浆的持续期,造成秕谷粒增多和粒重下降,导致水稻产量损失^[6, 8];同时造成籽粒光合产物不足,淀粉及其他有机物积累减少,使籽粒的充实度受到影响,造成稻米品质变劣^[25-26]。高温不利于水稻高产、优质栽培,而适当的施用氮肥能增加水稻产量,改善稻米品质。戴云云等^[27]研究发现,不同氮肥水平增温后结实率和千粒重下降,加工和外观品质均下降,尤以中氮处理下降最明显。吴翠

平等^[28]研究发现,在基追比例 1:1 的基础上增大拔节期氮素追施比例,能显著提高小麦常温和高温胁迫下籽粒产量,缓解高温胁迫对小麦千粒重和籽粒产量的不良影响,而对小麦品质影响甚微。本研究也发现,高温胁迫下,增施氮肥能增加水稻每穗粒数、结实率和千粒重,造成产量增加,其中又以中氮产量增加幅度最为明显。在品质上,高温胁迫下,增施氮肥后稻米的整精米率、胶稠度、蛋白质含量、最高粘度和崩解值提高,垩白米率、直链淀粉含量和消减值降低。说明在高温胁迫下,适当增施氮肥可以减轻高温对产量和稻米品质的不利影响。

有研究表明,施氮处理的根干质量都大于不施氮处理,根干质量随着施氮量的增加而增加,但地上部分增加的幅度更为显著,因此施氮处理的根冠比反而小于不施氮处理,根冠比随施氮量的增加而减小,说明施氮处理增加了叶面积,增大了光合作用的场所,但根冠比的下降又在某种程度上增加了叶片蒸腾失水,不利于作物维持水分平衡^[29]。本研究表明,在高温胁迫下,增施氮肥后水稻剑叶的光合速率和根系活力显著提高,当施氮量继续增加时,光合速率和根系活力则明显下降,光合速率的显著提高能为籽粒和地下部的生长提供充足的光合产物,而根系活力的增强也影响地上部的养分吸收、生长发育和产量形成^[30],说明适当增施氮肥后,较强的根系活力及其与地上部较好的协调关系延缓了在高温胁迫下产量下降和品质变劣的幅度。



AGP—腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶；StS—淀粉合酶；SBE—淀粉分支酶；DBE—淀粉脱支酶。

图 7 高温胁迫下施氮量对籽粒蔗糖-淀粉代谢途径关键酶活性的影响

Fig. 7. Effects of N application amount on activities of key enzymes in sucrose-to-starch conversion under high temperature.

淀粉的合成不仅与合成淀粉的前体物质—蔗糖的供应情况有关,而且与籽粒利用前体物质的能力即酶活性的大小有关。有研究表明,库器官中与降解蔗糖有关的酶活性高有利于降低库中蔗糖浓度进而增强库活性,从而形成一个蔗糖从韧皮部装载到卸载的梯度^[31-32]。蔗糖合酶(SuS)是水稻籽粒中蔗糖降解的主要酶,他的活性是库活性的主要指标^[31, 33-34]。腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGP)是淀粉合成的关键酶,其活性与淀粉合成速率和数量密切相关,淀粉合酶(StS)、淀粉分支酶(SBE)和淀粉脱支酶(DBE)是淀粉合成,特别是支链淀粉合成的重要酶^[35-37]。本研究表明,高温胁迫下,籽粒蔗糖含量升高,而 SuS 活性降低,但增施氮肥后,特别是中氮条件下,降低了籽粒蔗糖的 SuS 活性,催化淀粉合成的相关酶 AGP、StS、SBE、DBE 活性升高,将前体物质进一步转化为淀粉的能力增强,利于淀粉的合成,最终导致粒重增加,产量上升。说明适当增施氮肥后,籽粒中蔗糖-淀粉代谢途径关键酶活性高是其在高温胁迫下能保证较高产量和较好品质的重要原因。

淀粉的链长结构是形成淀粉结构的基础,也是水稻籽粒各种淀粉合成酶作用的直接结果。目前已有报道关于环境因子对支链淀粉分支链影响的研究,主要是温度的影响。Asaoka 等^[38]研究表明,高温能增加支链淀粉长 B 链含量,而减少的主要是短 B 链, A 链也有所减少,但不多。Jiang 等^[39]也认为,高温下水稻籽粒胚乳中支链淀粉分支频率降低,使支链淀粉中长链部分相应的增加,而其他环境因素,如氮素、水分对支链淀粉结构的影响鲜见报道。本研究观察到高温使短链降低,中长链增加,而施氮量的增加可使短链增加,中长链降低。在高温胁迫下,适当增施氮肥可使短链增加,中长链降低,这可能是崩解值增加、消减值减小、稻米食味性变好的重要原因。

支链淀粉的精细结构主要由 StS、SBE 和 DBE 3 种酶决定^[40],但它们在支链淀粉构成中的作用还没有被完全阐明。对于 DBE 在淀粉生物合成中的作用,目前还存在争议^[39, 41-42]。本研究也发现,StS、SBE 和 DBE 酶活性高,其短链含量也高,说明这三种酶活性高,可能有利于支链淀粉短链的合成。本研究还发现,DBE 在灌浆中后期还有较高的酶活性,这与支链淀粉链长分配有无必然的联系,且 StS、SBE 和 DBE 是怎样共同作用于支链淀粉结构

的形成? 值得进一步研究。

本研究观察到,氮素处理对结实率的 F 值要大于温度,而对千粒重的 F 值小于高温,结实率的氮素与温度互作效应不显著,但千粒重的两因素互作显著。说明在本研究的条件下,温度对结实率的影响小于氮素对结实率的影响;氮素对结实率的影响不因温度处理的不同而有显著差异,反之亦然。分析其原因,高温主要影响受精率(空粒率增加);在高温下,施用氮肥对空粒率的影响在施氮量间和品种间差异较大,因而表现出温度和氮肥对结实率的影响无显著的互作效应。温度对千粒重的影响却大于氮素对千粒重的影响,且氮肥和温度对千粒重的影响存在互作效应,说明高温影响水稻籽粒的充实程度,即这些籽粒虽然能灌浆充实(籽粒的比重大于 1),但粒重降低;适量施用氮肥以后,可以减轻高温对籽粒充实程度的不利影响。

黄英金等^[43]报道,水稻剑叶光合速率、叶绿素含量及内源多胺含量在高温胁迫下显著增加,但在高温胁迫解除后又迅速降低,表现出从高温转到适温的“适应”过程。但耐热品种胁迫解除后恢复能力更强。谭贺^[44]和曾汉来等^[45]观察到,不同水稻品种或组合对温度的适应度不同。本研究则表明,高温对籽粒蔗糖含量及蔗糖-淀粉代谢途径关键酶活性等的影响并未因高温处理的结束而使得高温效应解除,即高温解除后这些指标没有表现出很明显的适应现象。Cao 等^[46]也有类似的研究结果。说明植物对高温解除后的适应性,因品种、测定时期、测定部位而有很大差异。对于这些适应性差异原因,尚需深入研究。

另外需要指出的是,本研究的结果是根据当地开花灌浆期常年相对湿度、人工气候室的相对湿度设置为 50% 的条件下取得的。有研究报道^[47],空气日平均湿度为 58.2%~90.4%、日最低湿度为 38.6%~82.6% 时,湿度对水稻的灌浆速度是没有影响的。但也有研究表明^[48],日相对湿度 $\leq 70\%$ 天数增加,会促进水稻千粒重增加。高温与相对湿度对水稻受精及灌浆的影响是否存在交互作用,这有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 王忠,顾蕴洁,陈刚,等. 稻米的品质和影响因素. 分子植物育种, 2003, 1(2): 231-241.
- [2] 程方民,钟连进. 不同气候生态条件下稻米品质性状的变异及

- 主要影响因子分析. 中国水稻科学, 2001, 15(3): 187-191.
- [3] 张国发, 王绍华, 尤娟, 等. 结实期不同时段高温对稻米品质的影响. 作物学报, 2006, 32(2): 283-287.
- [4] 郑建初, 张彬, 陈留根, 等. 抽穗期高温对水稻产量构成要素和稻米品质的影响及其基因型差异. 江苏农业学报, 2006, 21(4): 249-254.
- [5] 张桂莲, 陈立云, 雷东阳, 等. 水稻耐热性研究进展. 杂交水稻, 2005, 20(1): 1-5.
- [6] Jagadish S, Craufurd P, Wheeler T. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.). *J Exp Bot*, 2007, 58(7): 1627-1635.
- [7] Tashiro T, Wardlaw I. The effect of high temperature on kernel dimensions and the type and occurrence of kernel damage in rice. *Crop Pasture Sci*, 1991, 42(3): 485-496.
- [8] Zakaria S, Matsuda T, Tajima S, et al. Effect of high temperature at ripening stage on the reserve accumulation in seed in some rice cultivars. *Plant Prod Sci*, 2002, 5(2): 160-168.
- [9] 石庆华, 李木英, 许锦彪, 等. 高温胁迫对早稻根系质膜 ATPase 活性及 NH_4^+ 吸收的影响. 作物学报, 2006, 32(7): 1044-1048.
- [10] 陶龙兴, 王熹, 廖西元, 等. 灌浆期气温与源库强度对稻米品质的影响及其生理分析. 应用生态学报, 2006, 17(4): 647-652.
- [11] 程方民, 钟连进, 孙宗修. 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, 2003, 36(5): 492-501.
- [12] 闫川, 丁艳锋, 王强盛, 等. 穗肥施量对水稻植株形态、群体生态及穗叶温度的影响. 作物学报, 2008, 34(12): 2176-2183.
- [13] 张彬, 郑建初, 杨飞, 等. 施肥水平对抽穗期水稻穗部温度的影响及其原因分析. 中国水稻科学, 2007, 21(2): 191-196.
- [14] 刘立军, 桑大志, 刘翠莲, 等. 实时实地氮肥管理对水稻产量和氮素利用率的影响. 中国农业科学, 2003, 36(12): 1456-1461.
- [15] 张洪程, 王秀芹, 戴其根, 等. 施氮量对杂交稻两优培九产量、品质及吸氮特性的影响. 中国农业科学, 2003, 36(7): 800-806.
- [16] Sadras V, Echarte L, Andrade F. Profiles of leaf senescence during reproductive growth of sunflower and maize. *Ann Bot*, 2000, 85: 187-195.
- [17] 刘洪展, 郑风荣, 赵世杰. 根外施氮对热胁迫下小麦叶片光合特性的影响. 干旱地区农业研究, 2006, 24(2): 52-56.
- [18] 刘洪展, 郑风荣, 赵世杰. 高温胁迫下氮素营养对小麦幼苗叶片中活性氧代谢的影响. 福建农业学报, 2006, 21(2): 168-172.
- [19] Yang J, Zhang J, Wang Z, et al. Activities of enzymes involved in sucrose-to-starch metabolism in rice grains subjected to water stress during filling. *Field Crops Res*, 2003, 81(1): 69-81.
- [20] 程方民, 蒋德安, 吴平, 等. 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, 2001, 27(2): 201-206.
- [21] Yoshida S, Forno D, Cock J, et al. Determination of sugar and starch in plant tissue// Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. Philippines: the International Rice Research Institute, 1976: 46-49.
- [22] 杨建昌, 王志琴, 朱庆森. 不同土壤水分状况下氮素营养对水稻产量的影响及其生理机制的研究. 中国农业科学, 1996, 29(4): 58-66.
- [23] Zhu L J, Liu Q Q, Sang Y, et al. Underlying reasons for waxy rice flours having different pasting properties. *Food Chem*, 2010, 120(1): 94-100.
- [24] 国家质量技术监督局. 中华人民共和国国家标准: 优质稻谷. GB/T17891-1999. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- [25] 黎用朝, 李小湘. 影响稻米品质的遗传和环境因素研究进展. 中国水稻科学, 1998, 12(1): 51-52.
- [26] 孟亚利, 周治国. 结实期温度与稻米品质的关系. 中国水稻科学, 1997, 11(1): 51-54.
- [27] 戴云云, 丁艳锋, 王强盛, 等. 不同施氮水平下稻米品质对日间增温响应的差异. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(2): 276-282.
- [28] 吴翠平, 贺明荣, 张宾, 等. 氮肥基追比与灌浆中期高温胁迫对小麦产量和品质的影响. 西北植物学报, 2007, 27(4): 734-739.
- [29] 张岁岐, 山仑. 氮素营养对春小麦抗旱适应性及水分利用的影响. 水土保持研究, 1995, 2(1): 31-35.
- [30] 黄升谋, 邹应斌. 库源关系对杂交水稻根系及叶片衰老的影响. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2002, 28(3): 192-194.
- [31] Liang J, Zhang J, Cao X. Grain sink strength may be related to the poor grain filling of *indica-japonica* rice (*Oryza sativa*) hybrids. *Physiol Plant*, 2001, 112(4): 470-477.
- [32] Ranwala A P, Miller W B. Sucrose-cleaving enzymes and carbohydrate pools in *Lilium longiflorum* floral organs. *Physiol Plant*, 2002, 103(4): 541-550.
- [33] Kato T. Change of sucrose synthase activity in developing endosperm of rice cultivars. *Crop Sci*, 1995, 35(3): 827-831.
- [34] Yang J, Zhang J, Wang Z, et al. Activities of enzymes involved in sucrose-to-starch metabolism in rice grains subjected to water stress during filling. *Field Crops Res*, 2003, 81(1): 69-81.
- [35] Ahmadi A, Baker D A. The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. *Plant Growth Regul*, 2001, 35(1): 81-91.
- [36] Hurkman W J, McCue K F, Altenbach S B, et al. Effect of temperature on expression of genes encoding enzymes for starch biosynthesis in developing wheat endosperm. *Plant Sci*, 2003, 164(5): 873-881.
- [37] Yang J, Zhang J, Wang Z, et al. Activities of key enzymes in sucrose-to-starch conversion in wheat grains subjected to water deficit during grain filling. *Plant Physiol*, 2004, 135(3): 1621-1629.
- [38] Asaoka M, Okuno K, 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.). *Agric Biol Chem*, 1985, 49(2):

- 373-379.
- [39] Jiang H, Dian W, Wu P. Effect of high temperature on fine structure of amylopectin in rice endosperm by reducing the activity of the starch branching enzyme. *Phytochemistry*, 2003, 63(1): 53-59.
- [40] 吕冰, 郭志刚, 梁建生. 水稻胚乳中淀粉合成相关酶活性的变化对支链淀粉精细结构的影响. *中国科学: C 辑*, 2009, 38(8): 766-773.
- [41] Myers A M, Morell M K, James M G, et al. Recent progress toward understanding biosynthesis of the amylopectin crystal. *Plant Physiol*, 2000, 122(4): 989-998.
- [42] Nakamura Y, Umemoto T, Takahata Y, et al. Changes in structure of starch and enzyme activities affected by sugary mutations in developing rice endosperm. Possible role of starch debranching enzyme (R-enzyme) in amylopectin biosynthesis. *Physiol Plant*, 1996, 97(3): 491-498.
- [43] 黄英金, 罗永锋, 黄兴作, 等. 水稻灌浆期耐热性的品种间差异及其与剑叶光合特性和内源多胺的关系. *中国水稻科学*, 1999, 13(4): 205-210.
- [44] 谭贺, 曾宪楠, 夏天舒, 等. 高温对寒地梗稻萌发影响的研究. *黑龙江农业科学*, 2012(4): 32-34.
- [45] 曾汉来, 卢开阳, 贺道华, 等. 中籼杂交水稻新组合结实性的高温适应性鉴定. *华中农业大学学报*, 2000, 19(1): 1-4.
- [46] Cao Y Y, Zhang Q, Chen Y H, et al. Identification of differential expression genes in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) in response to heat stress by CDNA-AFLP analysis. *BioMed Res Intern*, 2013, 20: 1-11.
- [47] 王尚明, 胡逢喜, 张崇华, 等. 空气温湿度对水稻灌浆及空壳率的影响研究. *中国农学通报*, 2006, 22(9): 158-162.
- [48] 任义方, 高苹, 王春乙. 江苏高温热害对水稻的影响及成因分析. *自然灾害学报*, 2010, 19(5): 101-107.