

# 氮肥对水稻胚乳淀粉品质、相关酶活性及基因表达量的影响

孙涛 同拉嘎 赵书宇 王海微 韩云飞 张忠臣 金正勋\*

(东北农业大学 农学院, 哈尔滨 150030; \*通讯联系人, E-mail: zxjin326@hotmail.com)

## Effects of Nitrogen Fertilizer Application on Starch Quality, Activities and Gene Expression Levels of Related Enzymes in Rice Endosperm

SUN Tao, TONG Laga, ZHAO Shuyu, WANG Haiwei, HAN Yunfei, ZHANG Zhongchen, JIN Zhengxun\*

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

**Abstract:** 【Objective】The research aims to lay a theoretical basis for clarifying the influencing mechanism of nitrogen fertilization during grain filling period on rice starch quality. 【Method】Four *japonica* rice varieties with significant difference in amylose content in grains were selected. Pot experiments were conducted to study the effect of nitrogen application on the starch component and protein content in rice grains, and the protein hydrolysis of rice grains on starch viscosity properties, and to analyze the effect of nitrogen nutrition on the activity of sucrose synthase(SuSy), sucrose phosphate synthase(SPS) and acid invertase(AI) and the mRNA expression levels of *OsGBSS I*, *OsISA I*, *OsSBE I* and *OsSBE II* genes of rice grains during grain filling period. 【Results】The results showed that the grain amylopectin content was sensitive to nitrogen nutrition, and nitrogen nutrition during grain filling period changed the content of starch components in grains. The cooking and eating quality of high amylose content varieties degraded even more. The removal of rice protein could significantly improve the viscosity of rice, and the starch composition had a great influence on the viscosity properties of rice starch. Increasing nitrogen nutrition at grain filling stage significantly or highly significantly increased the activity of SuSy and AI in grains, and significantly inhibits the activity of SPS. The nitrogen nutrition at grain filling stage changed the mRNA expression level of *OsGBSS I*, *OsISA I* and *OsSBE II* of rice grains at different stages of grain filling, so that the change dynamics of the mRNA expression quantity of these genes changed during grain filling period except *OsSBE I*. Due to the influence of nitrogen nutrition, at the beginning of grain filling, *OsGBSS I* expression level was upregulated significantly, but downregulated significantly in the middle and late stages of grain filling. Nitrogen fertilization could significantly inhibit the transcription expression quantity of *OsISA I* of grains at grain filling stage and *OsSBE I* of grains in the middle and late stages of grain filling, and could significantly improve the mRNA expression quantity of *OsSBE I* of grains in the early and middle stages of grain filling. Nitrogen nutrition could inhibit the transcription expression quantity of *OsSBE II* gene of grains at the beginning of grain filling, and improve the transcription expression quantity of genes in the middle and late stages of grain filling. 【Conclusion】In addition to the effect of protein content on starch quality during grain filling and ripening, nitrogen nutrition also affected starch content and fine structure by regulating enzyme activities and gene expression related to starch synthesis. Ultimately, it changed the rice viscosity and taste quality.

**Key words:** rice; nitrogen nutrition; key enzyme genes involved in starch synthesis; transcription expression quantity

**摘 要:** 【目的】旨在为阐明灌浆成熟期氮素营养对水稻淀粉品质影响机理以及建立优质高产水稻栽培技术提供理论依据。【方法】选用4个籽粒直链淀粉含量差异显著的粳稻品种,通过盆栽试验研究氮素营养对稻米淀粉组分和蛋白质含量及稻米蛋白质水解对淀粉黏滞特性的影响,并分析氮素营养对灌浆过程中籽粒蔗糖合酶(SuSy)、蔗糖磷酸合酶(SPS)、蔗糖酸性转化酶(AI)活性及*OsGBSS I*、*OsISA I*、*OsSBE I*、*OsSBE II*基因转录表达量的影响。【结果】结果表明,籽粒支链淀粉含量对氮素营养很敏感,灌浆成熟期氮素营养能改变籽粒淀粉组分含量;施氮条件下,高直链淀粉含量品种蒸煮食味品质下降更加明显,去除稻米蛋白质可明显提高稻米黏滞特性,蛋白质对淀粉黏滞特性的影响很大;增加灌浆成熟期氮素营养能显著或极显著提高籽粒 SuSy 和 AI 活性,显著抑制籽粒 SPS 活性;灌浆成熟期氮素营养能改变灌浆不同时期籽粒 *OsGBSS I*、*OsISA I* 和 *OsSBE II* 基因转录表达量,

收稿日期: 2018-01-29; 修改稿收到日期: 2018-04-23。

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2017YFD0300506-5); 国家科技支撑计划资助项目(2015BAD23B05-11); 东北农业大学学科团队建设资助项目。

以致灌浆过程中这些基因的转录表达量变化动态发生改变,但 *OsSBE I* 基因转录表达量不因氮素营养而发生改变;受氮素营养的影响,灌浆起始期籽粒 *OsGBSS I* 基因表达量明显上调,而灌浆中后期明显下调;氮素营养明显抑制灌浆成熟期籽粒 *OsISA I* 基因和灌浆中后期的 *OsSBE I* 基因转录表达,显著提高灌浆前期和中期的籽粒 *OsSBE I* 基因转录表达量;氮素营养能抑制灌浆起始期籽粒 *OsSBE II* 基因的转录表达,而提高灌浆中后期的基因转录表达。【结论】灌浆成熟期氮素营养除了通过蛋白质含量对淀粉品质产生影响外,还通过调控淀粉合成相关的酶活性和基因表达量等生理环节对淀粉含量和精细结构起作用,最终改变稻米黏滞特性和食味品质。

关键词:水稻;氮素营养;淀粉合成关键酶基因;转录表达量

中图分类号:Q786;S143.1;S511.032

文献标志码:A

文章编号:1001-7216(2018)05-0475-10

氮素是水稻生长发育所必需的重要元素,对水稻产量和品质影响很大。淀粉和蛋白质是水稻籽粒中最重要的组分。大量研究证实,蛋白质和直链淀粉是影响稻米蒸煮食味品质的两个最重要的内在因素<sup>[1-4]</sup>,而稻米主要以米饭形式被消费,因此,稻米蒸煮食味品质是在众多品质性状中最重要的评价指标。籽粒成熟过程中淀粉和蛋白合成途径同步进行,两者既对立又统一,相互依赖又竞争<sup>[5]</sup>。对于施氮肥对淀粉品质的影响,普遍认为施氮肥直接增加籽粒蛋白质含量,进而对淀粉黏滞特性起负向作用,降低稻米蒸煮食味品质。氮素营养也影响淀粉组分及含量<sup>[6,7]</sup>,随着施氮量的增加稻米直链淀粉含量逐渐增加<sup>[8]</sup>;然而也有研究表明结实期施氮对直链淀粉含量影响不明显<sup>[9]</sup>,增施氮肥能降低直链淀粉含量<sup>[10]</sup>等。

淀粉积累为一系列复杂酶促反应过程。水稻通过光合作用在叶绿体中形成淀粉,然后被分解形成磷酸丙酮,在蔗糖磷酸合酶(sucrose phosphate synthase, SPS)、蔗糖合酶(sucrose synthase, SuSy)和蔗糖酸性转化酶(acid invertase, AI)的作用下从叶绿体运输到基质中形成蔗糖,以蔗糖的形式运输至“库”器官,为淀粉合成供给物质基础。进入籽粒细胞液中的蔗糖通过糖酵解形成 ADPG,接着在结合型颗粒淀粉酶(granule-bound starch synthase, GBSS)作用下形成直链淀粉,在淀粉合酶(soluble starch synthase, SSS)、淀粉分支酶(starch branching enzyme, SBE)和淀粉脱分支酶(starch debranching enzyme, DBE)等共同作用下生成支链淀粉。已有研究结果表明<sup>[11,12]</sup>,氮素营养能调控 *GBSS*、*ISAs* 和 *SBEs* 基因表达量和酶活性,并改变直链淀粉和支链淀粉组成。

鉴于氮素营养对水稻产量和品质及碳氮代谢起重要的调控作用以及氮肥对品质影响的认识,我们在前期研究基础上选用水稻籽粒直链淀粉含量有显著差异的粳稻品种,通过盆栽试验研究灌浆成熟期氮素营养对稻米蛋白质和淀粉组分含量及籽粒蔗糖代谢关键酶活性和 *OsGBSS I*、*OsISA I*、

*OsSBE I* 和 *OsSBE II* 基因表达量、蛋白质与淀粉品质关系的影响,旨在为阐明灌浆成熟期氮素营养对水稻淀粉品质影响的分子调控机理和建立优质高产水稻栽培技术提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 盆栽试验及取样方法

选取籽粒直链淀粉含量有显著差异的粳稻品种东农 423(直链淀粉含量 16.49%)和藤系 180(8.81%)以及从这两个亲本配制的组合中连续定向选择培育的籽粒直链淀粉含量超亲变异的两个稳定子代东农 1706(19.31%)和东农 1712(9.77%)作为供试材料。于 2015 年和 2016 年在东北农业大学校内进行盆栽试验,盆长 100 cm,宽 40 cm,高 40 cm。4 月 1 日至 15 日根据供试材料的生育期进行分期播种,以使抽穗期尽量一致。大钵体盘育苗,每孔播催芽籽 2 粒,大棚早育秧管理,5 月 13 日至 20 日选择长势一致的秧苗等距离插秧,每个供试品种插 6 盆,每盆插 8 穴,每穴插 2 棵,待缓苗后每穴留 1 棵苗,正常水分管理。

全生育期总施氮量(尿素,折合纯氮)7 kg/667 m<sup>2</sup>,并以盆的表面积换算得出每盆的施肥量。在此总施氮量基础上,设齐穗期增施氮肥(20%纯氮)处理和不施氮对照两个水平,3 次重复,氮、磷、钾肥(分别折合成 N、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、K<sub>2</sub>O)比例为 1:0.5:1。氮肥为尿素,磷肥为磷酸二铵,钾肥为硫酸钾。施肥方法是全部磷肥和 50%的钾肥以及总氮肥量的 50%用作基肥,于插秧前施入,施肥后充分搅拌 0—20 cm 土层。总氮肥量的 20%作分蘖肥施用,总氮肥量的 30%和 50%的钾肥作为穗肥施用。

在抽穗时,各处理选取生长整齐一致且同一天抽出叶鞘 3 cm 的稻穗挂牌标记。自抽穗后 10、15、20、25、30 d 分别取样,然后选取灌浆程度基本一致的穗中部约 30 粒籽粒,在低温条件下去壳去胚后存入冻存管中,存放于-80℃超低温冰柜里备用。

表 1 qRT-PCR 目的基因引物

Table 1. Target gene and sequence of qRT-PCR primers.

基因名称 Gene name	登录号 Accession number	上游引物(5'-3') Forward primer(5'-3')	下游引物(5'-3') Reverse primer(5'-3')	产物片段 Production size/bp
<i>OsGBSS I</i>	XM_015789006.1	AGCGTTGTGGCTGAGATCAA	CTTCTCACCGGTCTTTCCCC	138
<i>OsISA I</i>	XM_015794756.1	GTGGCCTTCTCCACGAAAGA	CTCTGGGAGTCCAACAACCG	90
<i>OsSBE I</i>	XM_015787625.1	CGTGGCCTGGAAAGGTCAA	TCAGGCATTTCTGGTCGAGGC	183
<i>OsSBE II</i>	XM_015772017.1	CCGCAGGAGAAATCCCATAC	GGAAGCACCTCATCCCTAA	181
<i>OsActin1</i>	AK100267	TCTCAACCCCAAGGCCAATC	ATGAGTAACCACGCTCCGTC	272

表 2 灌浆成熟期氮素营养对水稻产量性状的影响

Table 2. Effect of nitrogen nutrition on rice grain yield during grain filling stage.

品种 Variety	处理 Treatment	结实率 Seed-setting rate/%	增幅 Increased/%	千粒重 1000-grain weight/g	增幅 Increased/%
东农 423	施氮肥 Fertilization	96.11 aA	1.15	26.77 aA	2.17
Dongnong 423	对照 Contrast	95.02 bB	0.00	26.20 bB	0.00
东农 1706	施氮肥 Fertilization	95.48 aA	1.66	27.62 aA	5.74
Dongnong 1706	对照 Contrast	93.92 bB	0.00	26.12 bB	0.00
藤系 180	施氮肥 Fertilization	86.18 aA	1.99	31.39 aA	2.90
Toukei 180	对照 Contrast	84.50 bB	0.00	30.48 bB	0.00
东农 1712	施氮肥 Fertilization	97.81 aA	0.34	26.23 aA	3.47
Dongnong 1712	对照 Contrast	97.48 aA	0.00	25.35 bB	0.00

同列数据后大写字母表示差异极显著, 小写字母表示差异显著。下同。  
Within a column, values flanked by different capital letters and small letters are significantly different at 1% level and 5% level, respectively. The same as in tables below.

收获时各处理按盆混收脱粒, 自然干燥 3 个月  
后磨糙米, 经 1.7 mm 分级筛过筛后用全自动精米  
机磨精米, 利用漩渦式粉碎机磨粉, 供品质分析用。

1.2 稻米理化特性测定及米粉蛋白质水解方法

采用凯氏定氮法测定米粉蛋白质含量, 换算系  
数为 5.95, 按照中华人民共和国农业部部颁标准  
(NY/T 83-88)<sup>[13]</sup>测定米粉直链淀粉含量, 采用硫酸-  
蒽铜法<sup>[14]</sup>测定米粉总淀粉含量。支链淀粉含量为总  
淀粉含量减去直链淀粉含量。

采用澳大利亚 Newport Scientific 仪器公司的  
Super3 型 RVA(Rapid Visco Analyzer)快速测定仪,  
按照美国谷物化学协会规程的标准方法<sup>[15]</sup>测定供  
试样品米粉淀粉黏滞特性, 用 TCW(Thermal Cycle  
Windows)配套软件进行分析。

米粉蛋白质水解采用杨玉玲<sup>[16,17]</sup>等碱浸法进  
行, 稍有改进。称取待测精米粉 6 g, 加入 0.05 mol/L  
的 NaOH 溶液 60 mL 在室温下浸泡 24 h, 离心去掉  
上清液, 再加 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液至原体积并  
浸泡 12 h, 再加无水乙醇室温静止 4 h 吸水吸脂,  
离心后在 50℃下烘干得到脱蛋白精米粉样品, 作为  
蛋白质水解处理样品。同时称取米粉 6 g, 加入蒸  
馏水 60 mL, 过程同水解处理一致。

1.3 籽粒蔗糖代谢相关酶活性及基因转录表达量  
测定方法

参照金正勋等<sup>[18]</sup>方法测定蔗糖磷酸合酶  
(SPS)、酸性蔗糖转化酶(AI)及蔗糖合酶(SuSy)活性。  
取-80℃冰箱中保存的籽粒, 采用 Trizol 法提

取总 RNA, 加入去核糖核酸酶 DNase I 消除基因组  
DNA 污染, 采用反转录试剂盒(NOVA, 购自江苏  
愚公生命科技有限公司)合成 cDNA。根据 NCBI  
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)上公布的基因 RNA 序  
列, 用 Premier 5.0 软件设计 qRT-PC 引物(表 1), 在  
NCBI 网站上作 BLAST 比对, 保证引物专一性。  
以 cDNA 为模板, *Actin1* 为内参基因, 参照 *Taq*  
SYBR<sup>®</sup> Green qPCR 试剂盒进行 qRT-PCR, 每个样  
品重复 3 次。参照基因  $\Delta Ct$  法<sup>[19]</sup>, 计算目标基因相  
对表达量。采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 齐穗期施氮肥对水稻产量性状的影响

增施氮肥时期为穗数和每穗粒数已形成不变  
的齐穗期, 因此施肥处理对该两个性状没有影响,  
而对千粒重和结实率影响较大(表 2)。

增幅因品种而异, 其中结实率增幅为 0.34%~  
1.99%, 千粒重增幅为 2.17%~5.74%。说明增加灌  
浆成熟期氮素营养可显著提高稻谷的粒重和结实  
率, 进而有利于提高稻谷产量和籽粒成熟。

2.2 齐穗期施氮肥对灌浆不同时期籽粒淀粉组分  
含量响应

由表 3 可见, 齐穗期增施氮肥处理的各品种籽  
粒支链淀粉含量和总淀粉含量极显著增加, 而直链  
淀粉含量则显著或极显著降低, 变幅因品种而异,  
其中高直链淀粉含量品种东农 423 和东农 1706 受

表 3 灌浆不同时期处理间籽粒中总淀粉、直链淀粉、支链淀粉含量应比较

Table 3. Comparison of starch, amylose, amylopectin contents in grains during different grain filling stage.

品种与处理 Variety and treatment	直链淀粉含量 Amylose content			支链淀粉含量 Amylopectin content			总淀粉含量 Starch content		
	10 DAF	20 DAF	30 DAF	10 DAF	20 DAF	30 DAF	10 DAF	20 DAF	30 DAF
东农 423 Dongnong 423									
施氮肥 Fertilization	6.30 cC	15.50 bB	15.84 dC	42.64 eE	56.98 eE	59.46 eE	48.94 fF	72.48 cC	75.30 bB
对照 Contrast	6.42 cC	15.93 bB	16.29 cC	41.76 fF	55.46 gG	56.94 fF	48.29 gG	71.08 dD	72.91 eD
增幅 Increased/%	-1.87	-2.70	-2.76	2.11	2.74	4.43	1.35	1.97	3.28
东农 1706 Dongnong 1706									
施氮肥 Fertilization	9.74 bB	16.91 cC	17.88 bB	46.25 cC	60.63 bB	61.58 cC	56.00 aA	75.24 aA	76.46 aA
对照 Contrast	10.05 aA	17.87 aA	19.20 aA	45.00 dD	56.62 fF	56.86 gFG	55.54 bB	74.49 bB	75.16 cB
增幅 Increased/%	-3.08	-5.37	-6.88	2.78	7.08	8.30	0.83	1.01	1.73
藤系 180 Toukei 180									
施氮肥 Fertilization	3.53 dD	7.55 eE	7.75 fDE	50.75 aA	61.56 aA	66.21 aA	54.27 cC	68.81 eE	73.96 dC
对照 Contrast	3.70 dD	8.00 dD	8.27 fE	48.69 bB	59.26 cC	63.67 bB	52.58 dD	66.76 fF	71.33 fE
增幅 Increased/%	-4.59	-5.63	-6.29	4.23	3.88	3.99	3.21	3.07	3.69
东农 1712 Dongnong 1712									
施氮肥 Fertilization	2.56 gF	5.05 gG	7.28 gF	48.48 bB	59.16 dD	59.87 dD	50.64 eE	64.11 gG	67.15 gF
对照 Contrast	2.71 fE	5.46 fF	7.88 eD	46.05 cC	56.61 fF	56.69 hG	48.76 fF	62.08 hH	63.57 hG
增幅 Increased/%	-5.54	-7.51	-7.61	5.28	4.50	5.61	3.86	3.27	5.63

DAF—抽穗后天数。同列数据后大写字母表示差异极显著,小写字母表示差异显著。下同。  
DAF, Days after heading. Within a column, values flanked by different capital letters and small letters are significantly different at 1% level and 5% level, respectively. The same as in tables below.

氮素营养的影响籽粒直链淀粉含量降幅小于支链淀粉含量,而低直链淀粉含量品种藤系 180 和东农 1712 受氮素营养的影响籽粒直链淀粉含量降幅大于支链淀粉,而且低直链淀粉含量品种的籽粒总淀粉含量增幅大于高直链淀粉含量品种。说明籽粒淀粉组分含量受灌浆成熟期氮素营养的影响较大,而且氮素营养对淀粉组分含量的影响因籽粒直链淀粉含量不同而异。

2.3 蛋白质水解对稻米黏滞特性影响

增施氮肥最直接的影响是提高籽粒蛋白质含量,降低淀粉黏滞特性和食味品质。为了明确氮肥对淀粉黏滞特性的直接和间接影响,采用碱浸法水解供试材料米粉中的蛋白质,然后比较了淀粉黏滞特性,其结果列于表 4。

由表 4 可见,与未施氮肥对照相比,齐穗期施氮肥极显著提高东农 423、东农 1706、藤系 180 的稻米蛋白质含量,而东农 1712 略有提高,其中高直链淀粉含量品种东农 423 和东农 1706 的增幅度达到 1 个百分点以上,说明增加灌浆成熟期氮素营养显著提高籽粒蛋白质含量,其增幅因品种而异。

就淀粉谱特性而言,齐穗期施氮肥,高直链淀粉含量品种东农 423 和东农 1706 的最高黏度、最低黏度、最终黏度及下降黏度值均极显著下降,而低直链淀粉含量品种藤系 180 和东农 1712 则与之

相反,均极显著增加,说明高直链淀粉含量品种受氮肥的影响蒸煮食味品质变劣更加明显,灌浆成熟期氮素营养对稻米蒸煮食味品质的影响因直链淀粉含量不同而异。

与未水解蛋白质对照相比,水解处理后供试的 4 个品种无论是齐穗期施氮肥与否,米粉中的蛋白质含量都降低到 2.48%~2.64%,最终供试材料间米粉蛋白质含量差异都甚小,供试品种的米粉蛋白质含量都在同一水平,说明米粉碱水处理后蛋白质水解效果很显著。与未水解对照相比,水解处理的米粉直链淀粉含量极显著增加,这可能与蛋白质水解后米粉量发生变化有关,并非绝对含量增加。

水解处理与未水解对照相比,供试的 4 个品种无论是齐穗期施氮肥与否,米粉的最高黏度和崩解值均极显著增加,而黏滞峰消减值、最低黏度、最终黏度等均极显著降低,其中崩解值增幅和黏滞峰消减值降幅较大,增加或降低的平均值分别为 91.90 和 -81.95,而且低直链淀粉含量品种变幅比高直链淀粉含量品种更大。说明去除稻米蛋白质可明显提高稻米的黏滞特性,降低稻米蛋白质含量能显著提高稻米蒸煮食味品质,同时淀粉组成对淀粉黏滞特性的影响也很大,降低稻米直链淀粉含量对提高淀粉黏滞特性具有重要作用。灌浆成熟期氮素营养一方面通过提高籽粒蛋白质含量直接影响黏滞特性,

表 4 蛋白质水解对稻米 RVA 谱特性的影响

Table 4. Comparison of RVA properties of de-protein rice.

品种 Variety	施肥处理 Treatment	处理 Treatment	最高黏度 Max. viscosity	最低黏度 Min. viscosity	最终黏度 Final viscosity	崩解值 Breakdown	消减值 Setback	蛋白质含量 Protein / %	直链淀粉含量 Amylose / %
东农 423	施氮肥	水解 Hydrolyzed	321.5 gG	114.8 kK	225.2 jI	206.8 eE	-96.4 hG	2.57 fE	22.45 aA
Dongnong 423	Fertilization	对照 Contrast	263.0 iL	174.5 dD	285.2 dD	88.6 iL	22.2 dC	10.28 aA	20.80 cD
		水解 Hydrolyzed	279.8 kJ	125.1 hH	241.9 iH	154.7 jJ	-37.9 gF	2.52 fE	22.59 aA
		对照 Contrast	277.8 kK	198.9 aA	322.8 aA	79.0 mM	45.0 cB	8.90 cB	20.94 cC
东农 1706	施氮肥	水解 Hydrolyzed	287.0 iI	127.9 gG	257.8 eE	159.1 iI	-29.2 fE	2.48 fE	21.87 bB
Dongnong 1706	Fertilization	对照 Contrast	221.3 nN	164.2 fF	286.3 dD	57.1 oO	65.0 aA	8.98 cB	20.41 dD
		水解 Hydrolyzed	282.5 jJ	118.0 jI	254.4 fF	164.5 hH	-28.1 fE	2.50 fE	21.92 bB
		对照 Contrast	248.4 mM	178.2 cC	310.1 cC	70.2 nN	61.7 bA	7.59 eD	20.86 cD
藤系 180	施氮肥	水解 Hydrolyzed	407.5 bB	110.0 iL	181.4 nM	297.5 bB	-226.1 nM	2.54 fE	12.21 eF
Toukei 180	Fertilization	对照 Contrast	350.1 eE	186.7 bB	248.9 gG	163.4 hH	-101.2 iH	9.40 bB	11.44 jK
		水解 Hydrolyzed	430.3 aA	113.3 kK	194.8 mL	317.0 aA	-235.5 oN	2.64 fE	12.64 eE
		对照 Contrast	359.1 dD	185.4 bB	246.2 hG	173.7 fF	-112.9 jI	8.48 dC	11.80 hH
东农 1712	施氮肥	水解 Hydrolyzed	403.7 cC	120.1 iI	195.6 mL	283.6 cC	-208.1 mL	2.48 fE	12.02 gG
Dongnong 1712	Fertilization	对照 Contrast	315.2 hH	199.4 aA	318.1 bB	115.9 kK	2.9 eD	9.04 cB	11.15 kK
		水解 Hydrolyzed	348.8 eE	117.2 jJ	214.7 iK	231.6 dD	-134.1 iK	2.59 fE	12.53 fG
		对照 Contrast	338.6 fF	169.4 eE	220.9 kJ	169.3 hH	-117.8 kJ	8.95 cB	11.67 iI

同列数据后大写字母表示差异极显著, 小写字母表示差异显著。下同。

Within a column, values flanked by different capital letters and small letters are significantly different at 1% level and 5% level, respectively. The same as in tables below.

另一方面通过影响淀粉组分含量间接影响黏滞特性。

2.4 齐穗期施氮肥对灌浆不同时期籽粒蔗糖代谢相关酶活性影响

由表 5 可见, 籽粒直链淀粉含量不同的品种间灌浆同一时期籽粒 SuSy、SPS、AI 活性差异达到显著或极显著水平。在灌浆不同时期籽粒 SuSy 活性均极显著高于 SPS 和 AI, 后两者的酶活性在整个灌浆过程中一直处于较低水平, 说明不同品种间籽粒 SuSy、SPS、AI 活性有显著的遗传差异, 在灌浆过程中 SuSy 在籽粒中的活性很高。

与未施氮肥对照相比, 齐穗期施氮肥显著或极显著提高灌浆不同时期籽粒 SuSy 和 AI 活性, 提高幅度因品种和灌浆时期不同而异, 其中 SuSy 活性提高幅度最高在抽穗后 15~25 d, 其中东农 423 在抽穗后 20 d 时提高幅度最大, 增幅为 18.60%, 东农 1706 在 15 d 时增幅为 74.73%, 而藤系 180 和东农 1712 在抽穗后 25 d 时增幅最大, 分别为 64.79% 和 68.19%, AI 活性提高幅度达到一倍以上。

与未施氮肥对照相比, 齐穗期施氮肥极显著降低灌浆前期高直链淀粉含量品种的 SPS 活性, 东农 423 和东农 1706 在抽穗后 10 d 时降幅最大, 分别为一 74.85% 和一 73.02%, 而低直链淀粉含量品种的 SPS 活性到灌浆中期极显著降低, 藤系 180 和东农 1712 在抽穗后 20 d 时降幅最大, 分别为一 45.01%

和一 78.22%。

以上结果说明, 在灌浆过程中籽粒 SuSy、SPS 和 AI 活性受施氮量的影响都很大, 增加灌浆成熟期施氮量能显著或极显著提高籽粒 SuSy 和 AI 活性, 而显著抑制籽粒 SPS 活性, 三种酶的作用及其对外界因素的反应相互独立。

2.5 齐穗期施氮肥对灌浆不同时期籽粒淀粉合成关键酶基因表达量影响

由表 6 可见, 灌浆不同时期籽粒 *OsGBSS I*、*OsISA I*、*OsSBE I*、*OsSBE II* 基因转录表达量供试的 4 个品种间差异均达显著或极显著水平, 说明上述基因的转录表达量品种间有显著或极显著的遗传差异。

在籽粒灌浆过程中齐穗期未施氮肥处理的 4 个供试品种籽粒 *OsGBSS I*、*OsISA I*、*OsSBE I*、*OsSBE II* 基因转录表达量均呈单峰曲线变化, 在抽穗后 20 d 表达量达到最高。但齐穗期施氮肥处理后上述 4 个基因的转录表达量变化动态发生改变, 其中 *OsSBE I* 基因转录表达量仍然呈单峰曲线变化, 抽穗后 20 d 表达量最高, 而 *OsGBSS I* 和 *OsISA I* 基因转录表达量是抽穗后 10 d 最大, 以后呈直线下降, *OsSBE II* 基因是抽穗后 10 d 前转录表达量较低, 但抽穗 10 d 后起表达量迅速升高, 直至抽穗后 30 d 达到高峰。说明灌浆成熟期施氮量能改变灌浆不同时期籽粒 *OsGBSS I*、*OsISA I* 和 *OsSBE II* 基因转录

表 5 灌浆不同时期处理间籽粒蔗糖合酶(SuSy)、蔗糖磷酸合酶(SPS)和蔗糖酸性转化酶(AI)活性比较  
Table 5. Comparison of SuSy, SPS and AI activities in grains under various treatments during different grain filling periods.

			mol/(g·min)				
酶活性 Enzyme activity	品种 Variety	处理 Treatment	抽穗后天数 Days after heading/d				
			10	15	20	25	30
SuSy	东农 423	施氮肥 Fertilization	46.89 aA	48.75 cC	52.93 cB	37.54 cC	35.81dD
	Dongnong 423	对照 Contrast	40.85 cC	42.54 eE	44.63 fE	33.55 dD	32.60 fF
	东农 1706	施氮肥 Fertilization	40.28 dD	67.15 aA	56.17 aA	48.38 bB	47.24 bB
	Dongnong 1706	对照 Contrast	31.30 gF	38.43 hG	42.09 gF	37.47 cC	36.86 eE
	藤系 180	施氮肥 Fertilization	39.48 fE	41.46 fE	50.61 dC	48.07 bB	46.06 fF
	Toukei 180	对照 Contrast	30.01 hG	40.05 gF	35.69 hG	29.17 fF	28.03 hH
	东农 1712	施氮肥 Fertilization	46.42 bB	53.63 bB	55.58 bA	51.82 aA	50.69 aA
	Dongnong 1712	对照 Contrast	39.93 eD	45.87 dD	46.75 eD	30.81 eE	29.19 gG
	东农 423	施氮肥 Fertilization	2.03 gG	5.81 gF	1.71gF	1.54 eE	1.57 eD
	Dongnong 423	对照 Contrast	8.07 dD	11.01 bB	3.18 eE	2.74 cC	1.81 dC
SPS	东农 1706	施氮肥 Fertilization	3.58 eE	8.54 eD	2.82 fE	2.75 cC	1.97 cC
	Dongnong 1706	对照 Contrast	13.27 aA	14.63 aA	3.71 dD	2.01 dD	1.25 fE
	藤系 180	施氮肥 Fertilization	10.34 cC	6.97 fE	4.90 cC	4.15 bB	2.98 bB
	Toukei 180	对照 Contrast	10.93 bB	9.59 cC	8.91 aA	6.22 aA	3.23 aA
	东农 1712	施氮肥 Fertilization	3.23 fF	2.53 hG	1.42 hF	1.21 fF	0.87 gF
	Dongnong 1712	对照 Contrast	10.35 cC	9.39 dC	6.52 bB	4.01 bB	2.88 bB
	东农 423	施氮肥 Fertilization	12.07 bB	14.04 cC	7.92 aA	7.01 aA	3.90 cB
	Dongnong 423	对照 Contrast	4.44 gG	5.08 hG	2.67 bB	2.23 hH	1.02 hF
	东农 1706	施氮肥 Fertilization	10.02 cC	18.05 aA	7.39 bB	4.06 dD	1.68 gE
	Dongnong 1706	对照 Contrast	4.51 gG	6.58 fE	3.78 gF	2.32 gG	1.99 fE
AI	藤系 180	施氮肥 Fertilization	14.35 aA	14.36 bB	6.67 cC	6.07 bB	4.22 bB
	Toukei 180	对照 Contrast	4.77 fF	6.59 eE	6.02 dD	3.26 eE	3.06 dC
	东农 1712	施氮肥 Fertilization	9.30 dD	9.66 dD	5.83 eD	5.19 cC	4.98 aA
	Dongnong 1712	对照 Contrast	5.38 eE	5.51 gF	4.23 fE	2.97 dD	2.45 eD

同列数据后大写字母表示差异极显著，小写字母表示差异显著。SuSy—蔗糖合酶；SPS—蔗糖磷酸合酶；AI—蔗糖酸性转化酶。下同。  
Within a column, values flanked by different capital letters and small letters are significantly different at 1% level and 5% level, respectively. SuSy, Sucrose synthase; SPS, Sucrose phosphate synthase; AI, Acid invertase.

表 6 灌浆不同时期籽粒 *OsGBSS I*、*OsISA I*、*OsSBE I*、*OsSBE II* 基因转录表达量比较  
Table 6. Comparison of expression levels of *OsGBSS I*、*OsISA I*、*OsSBE I*、*OsSBE II* in grains under different nitrogen nutrition conditions at different filling stages.

品种 Variety	处理 Treatment	抽穗后天数 Days after heading/d	<i>GBSS I</i>	<i>ISA I</i>	<i>SBE I</i>	<i>SBE II</i>
东农 423 Dongnong 423	施氮肥 Fertilization	10	1.000 fF	1.000 bB	1.000 eD	1.000 bB
		20	7.157 aA	2.275 aA	6.864 bA	3.703 aA
		30	2.638 dD	0.074 dD	4.293 cB	0.748 cC
	对照 Contrast	10	3.584 bB	0.162 cC	1.110 dC	0.425 dD
		20	3.171 cC	0.154 cC	6.935 aA	3.746 aA
		30	2.125 eE	0.004 eD	0.864 fE	3.750 aA
东农 1706 Dongnong 1706	施氮肥 Fertilization	10	1.000 fE	1.000 bB	1.000 fF	1.000 dD
		20	3.463 bB	3.216 aA	3.386 bB	1.643 cC
		30	1.422 dD	0.983 bB	2.490 cC	1.638 cC
	对照 Contrast	10	3.748 aA	0.778 cC	1.361 eE	1.029 dD
		20	2.695 cC	0.670 dC	4.544 aA	1.929 bB
		30	1.338 eD	0.217 eD	1.855 dD	2.412 aA
藤系 180 Toukei 180	施氮肥 Fertilization	10	1.000 eE	1.000 bB	1.000 cC	1.000 cC
		20	5.579 bB	1.305 aA	1.788 aA	2.119 bB
		30	4.777 cC	0.019 dD	0.369 dD	0.074 eE
	对照 Contrast	10	5.757 aA	0.491 cC	1.360 bB	0.290 dD
		20	5.522 bB	0.432 cC	1.373 bB	2.301 aA
		30	4.572 dD	0.006 dD	0.126 eE	2.319 aA
东农 1712 Dongnong 1712	施氮肥 Fertilization	10	1.000 bB	1.000 aA	1.000 dD	1.000 dD
		20	4.965 aA	0.282 cB	6.737 bB	3.481 bB
		30	0.686 dD	0.005 dC	0.701 fF	1.165 cC
	对照 Contrast	10	1.051 bB	0.909 bA	2.269 cC	0.936 dD
		20	0.879 cC	0.008 dC	6.831 aA	3.511 bB
		30	0.479 eE	0.003 dC	0.835 eE	3.732 aA

同列数据后大写字母表示差异极显著，小写字母表示差异显著。  
Within a column, values flanked by different capital letters and small letters are significantly different at 1% level and 5% level, respectively.

表达量, 以致灌浆过程中这些基因的转录表达量发生变化, 但 *OsSBE I* 基因转录表达量变化动态不因施氮量而发生变化。

就灌浆不同时期基因转录表达量变化而言, 抽穗后 10 d 时施氮肥处理的籽粒 *OsGBSS I* 基因转录表达量极显著高于没施氮肥的对照, 高出 1.05~5.76 倍, 而抽穗后 20 d 和 30 d 的转录表达量却极显著低于对照, 分别低 17.7%~98.98% 和 69.83%~95.71%, 说明受氮素营养的影响灌浆起始期籽粒 *OsGBSS I* 基因表达量明显上调, 而灌浆中后期明显下调, 上、下调幅度因品种而异。

与未施氮肥对照相比, 施氮肥处理的籽粒 *OsISA I* 基因转录表达量在整个灌浆过程中均极显著下降, 但 *OsSBE I* 基因转录表达量变化因灌浆时期不同而异, 抽穗至抽穗后 20 d 基因转录表达量普遍显著或极显著升高, 而抽穗后 30 d 普遍显著或极显著下降, 而东农 1712 在整个灌浆过程中均极显著升高。说明氮素营养明显抑制灌浆成熟期籽粒 *OsISA I* 基因和灌浆中后期 *OsSBE I* 基因转录表达, 显著提高灌浆前期和中期籽粒 *OsSBE I* 基因转录表达。

与未施氮肥对照相比, 施氮处理籽粒 *OsSBE II* 基因转录表达量抽穗后 10 d 时除东农 1706 略高外, 其他品种均极显著或略有降低, 但抽穗后 20 d 和 30 d 时供试的 4 个品种均极显著或略有升高, 说明氮素营养能抑制灌浆起始期籽粒 *OsSBE II* 基因的转录表达, 而促进灌浆中后期的基因转录表达, 抑制或提高的幅度因品种不同而异。

### 3 讨论

围绕着氮肥与稻米品质间的关系国内外学者做了大量研究, 大多是从氮肥与稻米蛋白质含量和蒸煮食味性状或氮代谢关系进行研究<sup>[1-4,12,20]</sup>, 近几年氮素营养与淀粉合成相关基因表达量关系方面也有一些报道<sup>[6,11,21]</sup>。已有研究表明, 随着蛋白质含量的提高稻米蒸煮食味品质逐渐降低<sup>[4,22]</sup>, 增施氮肥尤其是抽穗以后施氮肥显著提高籽粒蛋白质含量<sup>[23]</sup>, 进而降低稻米黏滞性和食味品质, 本研究也得到同样的结果与结论。在本研究中去掉稻米蛋白质可显著提高稻米淀粉谱特性中的崩解值, 显著降低黏滞峰消减值, 大幅提高稻米黏滞特性, 再次证明蛋白质含量高影响蒸煮食味品质。

然而, 氮素营养作为水稻生长发育及产量和品质形成过程中不可缺少的大量元素, 不仅对蛋白质

合成相关的氮代谢有影响, 而且对淀粉合成相关的碳代谢也有影响<sup>[1,7,11,12,18,22]</sup>。在本研究中受灌浆成熟期氮素营养的影响籽粒 SuSy 和 AI 活性及灌浆起始期的籽粒 *OsGBSS I* 基因及灌浆前期和中期的籽粒 *OsSBE I* 和灌浆中后期的 *OsSBE II* 基因转录表达量显著或极显著升高, 而籽粒 SPS 活性及灌浆中期、后期的籽粒 *OsGBSS I* 基因和整个灌浆过程中的 *OsISA I* 基因、灌浆中后期的 *OsSBE I* 基因和灌浆起始期籽粒 *OsSBE II* 基因转录表达显著受到抑制。*OsGBSS I*、*OsSBE I*、*OsSBE II*、*OsISA I* 基因是参与胚乳直链淀粉和支链淀粉生物合成的关键酶基因, SuSy 和 AI、SPS 酶是参与蔗糖代谢的关键酶。已有研究表明, GBSS 主要控制着直链淀粉的合成<sup>[24-25]</sup>, 是控制水稻胚乳中直链淀粉占总淀粉比值的关键酶<sup>[26]</sup>, GBSS I 是胚乳直链淀粉合成过程中的关键酶<sup>[27]</sup>, *OsGBSS I* 是参与合成直链淀粉的关键基因, 其表达量直接影响直链淀粉含量, 抑制该基因的表达量能降低籽粒直链淀粉含量<sup>[21]</sup>。SSS 用于延伸  $\alpha$ -1,4 糖苷键连接的葡萄糖链, 再由 BEs 形成分枝, 最后由 DBE 去除不适分枝合成支链淀粉, SBE I 和 SBE II 分别负责 70% 和 30% 的水稻胚乳支链淀粉合成<sup>[28,29]</sup>, 其中 SBE I 主要催化短链的形成, SBE3 催化长链的形成<sup>[30-32]</sup>, *SBE- I* 突变体显示有些特定支链淀粉侧链的长度有变化<sup>[33]</sup>。异淀粉酶是直接参与支链淀粉合成的酶, *ISA I* 是水稻籽粒中最重要的淀粉结构决定基因之一<sup>[34,35]</sup>, 水稻花后高温会导致 *ISA I* 基因表达量显著上调<sup>[36]</sup>, 支链淀粉中的长 B 链数量减少和中长 B 链数量增加<sup>[37]</sup>。由此可知, 参与淀粉生物合成的各关键酶或基因都担负着特殊的功能, 每个基因的功能和表达量或酶活性的变化都会造成淀粉含量和精细结构的变化, 进而影响淀粉品质。支链淀粉和直链淀粉的组分比例以及支链淀粉的精细结构是影响稻米蒸煮食味品质的重要内在决定因素。在本研究中蛋白质含量很相近的齐穗期施氮肥处理和对照处理米粉间淀粉黏滞特性仍然表现很大差异, 也说明灌浆成熟期氮素营养除了通过蛋白质含量对淀粉品质起影响外, 还通过调控淀粉合成相关的酶活性和基因表达量等途径对淀粉含量和精细结构起作用, 最终改变稻米黏滞特性和食味品质。因此, 如何调控灌浆成熟期氮素营养是今后优质水稻栽培所要解决的关键问题, 而不是简单采取少施氮肥或抽穗后不施氮肥等控氮技术措施来达到优质的目的。穗肥相对比例不足则叶片早衰, 籽粒灌浆时间缩短, 整精米率和直链淀粉含量升高而蛋白质含量下降<sup>[38]</sup>。

控氮措施因水稻生育后期缺少氮素营养而降低光合效率及早衰,稻谷成熟度和结实率低,导致既减产又降低稻米品质。保持灌浆成熟期的水稻植株氮浓度不仅能增加剑叶中 RuBP 羧化酶各亚基基因的转录表达量和表达持续时间<sup>[7]</sup>及 RuBP 羧化酶活性和光合产物量<sup>[6]</sup>,而且还能增强或减弱灌浆不同时期的籽粒 *OsGBSS I*、*OsSBE I*、*OsSBE II*、*OsISA I* 及 SuSy、AI、SPS 和 ADPG, SSS 和 SBE 等淀粉合成相关基因的表达量和酶活性,降低籽粒直链淀粉含量及提高支链淀粉含量和改变精细结构,进而改善淀粉的黏滞性,提高稻米的蒸煮食味品质。在本研究中,齐穗期施氮肥处理的东农 423 品种的崩解值大于对照,而黏滞峰消减值小于对照,千粒重和结实率均高于对照,说明通过灌浆成熟期氮素营养的合理管理可达到提高产量,又改善蒸煮食味品质的目的。因此,针对蛋白质和淀粉合成相关酶基因表达调控机理,采用精准合理地施用氮肥,以保证优质淀粉品质形成所需的灌浆成熟期氮素营养,进而协调优质与高产,最终达到既提高水稻产量,又改善稻米品质的目的。

#### 参考文献:

- [1] 沈鹏,金正勋,罗秋香,金学泳,孙艳丽. 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.  
Shen P, Jin Z X, Luo Q X, Jin X Y, Sun Y L. Relationship between activity of key starch synthetic enzymes during grain filling and quality of eating and cooking in rice. *Chin J Rice Sci*, 2006, 20(1): 58-64. (in Chinese with English abstract)
- [2] 李晓光,金正勋,刘海英,赵书宇,徐美兰,张忠臣,沈鹏,张海彬. 水稻杂种后代籽粒直链淀粉和蛋白质含量选择对产量和品质性状的影响. *东北农业大学学报*, 2011, 42(4): 13-17.  
Li X G, Jin Z X, Liu H Y, Zhao S Y, Xu M L, Zhang Z C, Shen P, Zhang H B. Effect of amylose and protein content selection on yield and quality traits of hybrid progenies in rice. *J Northeast Agric Univ*, 2011, 42(4): 13-17. (in Chinese with English abstract)
- [3] 张欣,施利利,刘晓宇,丁得亮,王松文,崔晶. 不同施肥处理对水稻产量、食味品质及蛋白质组分的影响. *中国农学通报*, 2010, 26(4): 104-108.  
Zhang X, Shi L L, Liu X Y, Ding D L, Wang S W, Cui J. Effect of different fertilizer treatments on rice yield, grain quality and protein fraction content. *Chin Agric Sci Bull*, 2010, 26(4): 104-108. (in Chinese with English abstract)
- [4] 谢黎虹,罗炬,唐绍清,陈能,焦桂爱,邵高能,魏祥进,胡培松. 蛋白质影响水稻米饭食味品质的机理. *中国水稻科学*, 2013, 27(1): 91-96.
- Xie L H, Luo J, Tang S Q, Chen N, Jiao G A, Shao G N, Wei X J, Hu P S. Proteins affect rice eating quality properties and its mechanism. *Chin J Rice Sci*, 2013, 27(1): 91-96. (in Chinese with English abstract)
- [5] 阳剑,时亚文,李宙炜,陶优生,唐启源. 水稻碳氮代谢研究进展. *作物研究*, 2011, 25(4): 383-387.  
Yang J, Shi Y W, Li Z Y, Tao Y S, Tang Q Y. Research progress of rice carbon and nitrogen metabolism. *Crop Res*, 2011, 25(4): 383-387. (in Chinese with English abstract)
- [6] 朱方旭,郭雪冬,同拉嘎,张玉磊,潘冬,李明月,李丹,张忠臣,金正勋. 蘗穗氮肥追施比例对水稻灌浆成熟期 Rubisco 和 GS 同工型基因表达量的影响. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(2): 324-332.  
Zhu F X, Guo X D, Tong L G, Zhang Y L, Pan D, Li M Y, Li D, Zhang Z C, Jin Z X. Expression response of Rubisco and GS isoform gene to the ratio of tillering and heading nitrogen fertilization at rice filling stage. *J Plant Nutr Fert*, 2017, 23(2): 324-332. (in Chinese with English abstract)
- [7] 金正勋,郭雪冬,朱方旭,张忠臣. 灌浆成熟期氮素营养对粳稻品质性状及籽粒蔗糖代谢相关酶活性影响. *东北农业大学学报*, 2016, 47(9): 1-6.  
Jin Z X, Guo X D, Zhu F X, Zhang Z C. Effect of nitrogen nutrition in japonica quality characters and grain sucrose-metabolizing enzymes activity during grouting mature stage. *J Northeast Agric Univ*, 2016, 47(9): 1-6. (in Chinese with English abstract)
- [8] 从夕汉,施伏芝,阮新民,罗玉祥,马廷臣,罗志祥. 氮肥水平对不同基因型水稻氮素利用率、产量和品质的影响. *应用生态学报*, 2017, 28(4): 1219-1226.  
Cong X H, Shi F Z, Ruan X M, Luo Y X, Ma T C, Luo Z X. Effects of nitrogen fertilizer application rate on nitrogen use efficiency and grain yield and quality of different rice varieties. *Chin J Appl Ecol*, 2017, 28(4): 1219-1226. (in Chinese with English abstract)
- [9] 王龙,仲维君,张丽微,黄成亮,潘世驹,姜玉伟,赵婷婷,宋泽,周健,钱永德. 结实期施氮对水稻空育 131 品质的影响. *四川农业大学学报*, 2016, 31(1): 19-23.  
Wang L, Zhong W J, Zhang L W, Huang C L, Pan S J, Jiang Y W, Zhao T T, Song Z, Zhou J, Qian Y D. Effect of nitrogen fertilizer on the quality of the Kongyu 131 in seed setting stage. *J Sichuan Agric Univ*, 2016, 31(1): 19-23. (in Chinese with English abstract)
- [10] 李运祥,王忠,顾蕴洁,陈召洲. 施氮处理对稻米淀粉积累的影响. *南京师大学报: 自然科学版*, 2003, 26(3): 31-35.  
Li Y X, Wang Z, Gu Y J, Chen Z Z. Effects of various nitrogen treatments on starch accumulation in caryopsis during the rice grain filling. *J Nanjing Nor Univ: Nat Sci Ed*, 2003, 26(3): 31-35. (in Chinese with English abstract)
- [11] 朱立楠,刘海英,孙璐璐,孙涛,郭雪冬,朱方旭,张忠臣,金正勋. 水稻灌浆过程中胚乳异淀粉酶基因家族表达特性及其与淀粉含量间关系分析. *中国水稻科学*, 2015, 29(5): 528-534.



- Zhu L N, Liu H Y, Sun L L, Sun T, Guo X D, Zhu F X, Zhang Z C, Jin Z X. Analysis of expression characteristics of isoamylase and the correlation with starch content during grain filling in rice. *Chin J Rice Sci*, 2015, 29(5): 528-534. (in Chinese with English abstract)
- [12] 杜晓东, 赵宏伟, 王敬国, 刘化龙, 杨亮, 许晶, 宋谨同. 氮素运筹对寒地粳稻淀粉合成关键酶活性及淀粉积累的影响. *作物学报*, 2012, 38(1): 159-167.
- Du X D, Zhao H W, Wang J G, Liu H L, Yang L, Xu J, Song J T. Changes in starch accumulation and activity of enzymes associated with starch synthesis under different nitrogen applications in japonica rice in cold region. *Acta Agron Sin*, 2012, 38(1): 159-167. (in Chinese with English abstract)
- [13] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部颁标准 NY147—88. 米质测定方法. 北京: 中国标准出版社, 1988.
- Ministry of Agriculture, the Peoples Republic of China. Measuring Method of Rice Quality Characteristics. NY147—88. Beijing: China Standards Press, 1988. (in Chinese)
- [14] 何照范. 谷物淀粉组份分离及测试方法评述. *粮食储藏*, 1985, 65(6): 32-38.
- He Z F, A review of the separation and test methods of cereal starch. *Grain Stor*, 1985, 65(6): 32-38. (in Chinese)
- [15] American Association of Cereal Chemist (AACC). Approved methods of analysis. 11th edn. Methods 61-02. 01. Determination of the Pasting Properties of Rice with the Rapid Visco Analyser. The Association: St. Paul, MN, 1999.
- [16] 杨玉玲, 许时婴. 粳米为基质的脂肪替代品—糊化工艺研究. *中国粮油学报*, 2002, 17(6): 48-50.
- Yang Y L, Xu S Y. Rice based fat substitute: Study on gelatinization. *Chin Cereals Oils Assoc*, 2002, 17(6): 48-50. (in Chinese with English abstract)
- [17] Chrastil J. Protein-starch interactions in rice grains. Influence of storage on oryzenin and starch. *J Agric Food Chem*, 1990, 38(9): 1804-1809.
- [18] 金正勋, 朱方旭, 郭雪冬, 张忠臣. 不同施氮方法对粳稻灌浆成熟期蔗糖代谢相关酶活性及品质性状影响. *东北农业大学学报*, 2016, 47(6): 1-7.
- Jin Z X, Zhu F X, Guo X D, Zhang Z C. Effect of different nitrogen application methods on metabolism correlation enzymes and quality in rice. *J Northeast Agric Univ*, 2016, 47(6): 1-7. (in Chinese with English abstract)
- [19] Rajeevan M S, Ranamukhaarachchi D G, Vernon S D, Unger E R. Use of real-time quantitative PCR to validate the results of cDNA array and differential display PCR technologies. *Methods* (San Diego, Calif.), 2001, 25(4): 443-451.
- [20] 孙永健, 孙园园, 李旭毅, 郭翔, 马均. 水氮互作下水稻氮代谢关键酶活与氮素利用的关系. *作物学报*, 2009, 35(11): 2055-2063
- Sun Y J, Sun Y Y, Li X Y, Guo X, Ma J. Relationship of activities of key enzymes involved in nitrogen metabolism with nitrogen utilization in rice under water-nitrogen interaction. *Acta Agron Sin*, 2009, 35(11): 2055-2063. (in Chinese with English abstract)
- [21] 苗红霞, 孙佩光, 张凯星, 金志强, 徐碧玉. 植物颗粒结合淀粉合成酶(GBSS)基因的表达调控机制研究进展. *生物技术通报*, 2016, 32(3): 18-23.
- Miao H X, Sun P G, Zhang K X, Jin Z Q, Xu B Y. Research progress on expression regulation mechanism of genes encoding granule-bound starch synthase in plants. *Biotech Bull*, 2016, 32(3): 18-23. (in Chinese with English abstract)
- [22] 陈书强, 杨丽敏, 赵海新, 杜晓东, 周通, 薛菁芳, 单莉莉, 王翠, 张献国. 穗粒肥用氮比例对寒地不同类型水稻产量和品质的影响. *中国稻米*, 2017, 23(4): 151-156.
- Chen S Q, Yang L M, Zhao H X, Du X D, Zhou T, Xue J F, Shan L L, Wang C, Zhang X G. Effects of the spike-grain nitrogen ratio on yield and quality of different types of rice in cold region. *China Rice*, 2017, 23(4): 151-156. (in Chinese)
- [23] Kim W, Johnson J W, Graybosch R A, Gaines C S. Physicochemical properties and end-use quality of wheat starch as a function of waxy protein alleles. *J Cereal Sci*, 2003, 37(2): 195-204.
- [24] 言普, 沈文涛, 黎小瑛, 周鹏. 植物 hpRNA 干扰载体构建的研究进展. *生物技术通报*, 2013(9): 7-12.
- Yan P, Shen W T, Li X Y, Zhou P. Progress in Construction of hpRNA vector for plant RNAi. *Biotechnol Bull*, 2013(9): 7-12. (in Chinese with English abstract)
- [25] Sasaki T, Yasui T, Matsuki J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. *Cereal Chem*, 2000, 77(1): 58-63.
- [26] Wang J C, Xu H, Zhu Y, Liu Q Q, Cai X L. OsbZIP58, a basic leucine zipper transcription factor, regulates starch biosynthesis in rice endosperm//2012 National Conference on Plant Biology. 2012: 3453-3466.
- [27] 方先文, 姜东, 戴廷波, 曹卫星. 小麦淀粉组分的积累规律. *江苏农业学报*, 2002, 18(3): 139-142.
- Fang X W, Jiang D, Dai T B, Cao W X. Accumulation regularity of starch components in wheat varieties. *Jiangsu J Agric Sci*, 2002, 18(3): 139-142. (in Chinese with English abstract)
- [28] Nishi A, Nakamura Y, Tanaka N, Satoh H. Organ Specificity of isoforms of starch branching enzyme (Q-enzyme) in rice. *Plant Cell Physiol*, 1992, 33(7): 985-991.
- [29] Satoh H, Nishi A, Yamashita K, Takemoto Y. Alteration of the structural properties of starch components by the lack of an isoforms of starch branching enzyme in rice seeds. *J Biol Chem*, 1993, 268(25): 19084-19091.
- [30] Kawasaki T, Mizuno K, Baba T, Shimada H. Molecular analysis of the gene encoding a rice starch branching enzyme. *Mol Gen Genet*, 1993, 237(1): 10-16.
- [31] Guan H P, Preiss J. Differentiation of the properties of the

- branching isozymes from maize (*Zea mays*). *Plant Physiol*, 1993, 102(4): 1269-1273.
- [32] Morell M K, Blennow A, Kosar-Hashemi B, Samuel M S. Differential expression and Properties of starch branching enzyme isoforms in developing wheat endosperm. *Plant Physiol*, 1997, 113(1): 201-208.
- [33] Satoh H, Nishi A, Yamashita K, Takemoto Y, Tanaka Y, Hosaka Y, Sakurai A, Fujita N, Nakamura Y. Starch-branching enzyme I deficient mutation specifically affects the structure and properties of starch in rice endosperm. *Plant Physiol*, 2003, 133: 1111-1121.
- [34] Utsumi Y, Utsumi C, Sawada T, Fujita N, Nakamura Y. Functional diversity of isoamylase oligomers: The ISA1 homo-oligomer is essential for amylopectin biosynthesis in rice endosperm. *Plant Physiol*, 2011, 156(1): 61-77.
- [35] Kubo A, Rahman S, Utsumi Y. Complementation of sugary-1 phenotype in rice endosperm with the wheat isoamylase1 gene supports a direct role for isoamylase1 in amylopectin biosynthesis. *Plant Physiol*, 2005, 137(1): 43-56.
- [36] 钟连进, 董虎, 蔡小波, 封言柠, 任凭, 程方民. 控制水稻胚乳淀粉合成代谢若干关键酶基因对花后高温的响应表达. *应用生态学报*, 2012, 23(3): 745-750.
- Zhong L J, Dong H, Cai X B, Feng Y N, Ren P, Cheng F M. Gene expression of the key enzymes controlling starch synthesis and metabolism in rice grain endosperm under effects of high temperature after anthesis. *Chin J Appl Ecol*, 2012, 23(3): 745-750. (in Chinese with English abstract)
- [37] 钟连进, 程方民, 张国平, 孙宗修. 灌浆结实期不同温度下早籼稻米淀粉链长分布与结构特征差异分析. *中国农业科学*, 2005, 38(2): 272-276.
- Zhong L J, Cheng F M, Zhang G P, Sun Z X. Differences in starch chain length distribution and structure characteristics of early-indica rice under different temperature treatments during grain-filling. *Sci Agric Sin*, 2005, 38(2): 272-276. (in Chinese with English abstract)
- [38] Delatte T, Trevisan M, Parker M L, Zeeman S C. *Arabidopsis* mutants *Atisa1* and *Atisa2* have identical phenotypes and lack the same multimeric isoamylase, which influences the branch point distribution of amylopectin during starch synthesis. *Plant J*, 2005, 41(6): 815-830.

## 欢迎订阅 2019 年《中国种业》

《中国种业》是由农业部主管, 中国农业科学院作物科学研究所和中国种子协会共同主办的全国性、专业性、技术性种业科技期刊。

刊物目标定位: 以行业导刊的面目出现, 并做到权威性、真实性和及时性。主要栏目有种业论坛、专题综述、种业管理、研究论文、品种选育、良种良法等; 报道内容范围: 最新种业政策、各地种业管理经验、种业企业经营之道、新品种新技术等, 信息量大, 技术实用。

读者对象: 各级种子管理、经营企业的领导和技术人员, 各级农业科研、推广部门人员, 大中专农业院校师生, 农村专业户和广大农业生产经营者。

月刊, 大 16 开, 每期 20 元, 全年 240 元。国内统一刊号: CN 11-4413/S, 国际标准刊号: ISSN 1671-895X, 全国各地邮局均可订阅, 亦可直接汇款至编辑部订阅, 挂号需每期另加 3 元。邮发代号: 82-132

地址: (100081)北京市中关村南大街 12 号 中国种业编辑部

电话: 010-82105796(编辑部); 010-82105795(广告发行部)

传真: 010-82105796

网址: <http://www.chinaseedqks.cn>

E-mail: [chinaseedqks@163.com](mailto:chinaseedqks@163.com)

微信公众号: 中国种业

中国种业编辑部 QQ 群: 115872093

中国种业读者 QQ 群: 289113905