

小麦灌浆期子粒淀粉合成关键酶活性 对不同水氮条件的响应

李孟洁^{1,2} 李红兵² 张丽娟³ 陈晓丽² 李雨霖² 邓西平²

(¹ 西北农林科技大学林学院, 712100, 陕西杨凌; ² 西北农林科技大学水土保持研究所/黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 712100, 陕西杨凌; ³ 西北农林科技大学生命科学院, 712100, 陕西杨凌)

摘要 在盆栽条件下,以旱地小麦品种长旱 58 为材料,研究了 3 种不同施氮条件下,灌浆期两种供水处理的小麦子粒中蔗糖代谢、淀粉积累及相关酶活性的变化特征。发现干旱处理有利于小麦灌浆前中期淀粉积累,干旱能提高子粒中蔗糖合成酶(SS)、可溶性淀粉合成酶(SSS)以及腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AG-Pase)的活性,干旱处理会降低灌浆后期子粒中淀粉合成相关酶活性及淀粉积累。结果表明在中氮水平下,干旱处理提高了小麦灌浆前期子粒中淀粉合成相关酶的生理活性,进而促进了小麦子粒中淀粉的合成与积累。

关键词 小麦;蔗糖代谢;ADPG 焦磷酸化酶;可溶性淀粉合成酶

小麦生物学产量中大部分来自于光合作用,小麦光合作用的主要产物是蔗糖。通常子粒中蔗糖含量的高低能够反映光合产物对子粒的供应能力,蔗糖含量越高,表明光合同化物的供应越充足,越有利于子粒的灌浆^[1-2]。子粒产量是小麦收获物中最重要的部分,小麦子粒中淀粉占干重的 65%~75%,是子粒产量的主体成分,因此淀粉积累速率的高低直接影响粒重^[3-4]。小麦子粒中淀粉的合成在造粉体中完成,需要一系列酶的催化^[5]。一般认为,蔗糖向淀粉转化过程中的关键酶主要包括蔗糖合成酶(SS)、腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)以及可溶性淀粉合成酶(SSS),这几种酶对小麦子粒的蔗糖代谢、淀粉合成与积累起着至关重要的调节作用^[6-7]。有研究发现,小麦灌浆后期子粒中蔗糖含量下降明显减缓与蔗糖合成酶活性的显著降低相吻合^[8-9]。SSS 是催化合成支链淀粉的关键酶,支链淀粉占淀粉含量的 65%~78%^[10-11],故 SSS 在淀粉合成中起重要作用。而且子粒中较强的 SSS 活性有利于提高 ADPG 合成淀粉的能力^[12]。

AGPase 主要催化淀粉合成时葡萄糖供体腺苷

二磷酸葡萄糖(ADPG)的形成,ADPG 是淀粉合成的直接前体,是淀粉合成过程中的限速酶^[13]。有研究表明,干旱可以通过渗透作用使淀粉合成相关酶的活性降低。旱作栽培能提高小麦灌浆前、中期淀粉合成酶活性,显著降低后期上述酶的活性^[6,14]。水分充足时,氮肥不足会造成小麦生理代谢及淀粉酶活性降低,产量减少;在水分不足时,施氮肥能补偿干旱条件下小麦生长发育缓慢、产量下降等不良反应所造成的损失,提高代谢酶活性,增加产量^[15-16]。合理的施氮方式可增加旱地小麦产量^[17]。有关干旱处理对小麦淀粉合成酶活性影响的研究报道较多,但关于不同水氮条件对小麦灌浆过程中蔗糖向淀粉转化过程中关键酶活性的影响缺乏深入的研究。因此,本研究结合不同水分与氮肥的互作来解析水氮条件对小麦灌浆期淀粉积累相关酶活性及淀粉积累量的影响,以期不同肥力条件下不同灌溉制度的小麦实现高产优质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与方案设计

选用旱地小麦品种长旱 58 作为试验材料,盆栽试验于 2012-2013 年在西北农林科技大学水土保持研究所干旱棚内进行。采用陕西杨凌当地耕层 0~20cm 土壤作盆栽土。该地区土壤类型为关中壤土,风干土土壤含水量为 2.7%,田间最大

作者简介:李孟洁,硕士研究生,主要从事植物水分生理生态研究
李红兵为通信作者,讲师,主要从事植物水分生理生态研究

基金项目:西北农林科技大学科技创新专项(Z109021304);国家重点基础研究发展计划(2015CB150402);国家自然科学基金(51479189)

收稿日期:2015-05-12;修回日期:2015-07-24

持水量为 27.8%。所用土壤理化性状为土壤有机质 16.6g/kg、全氮 1.1g/kg、速效氮 82.3mg/kg、速效磷 39.9mg/kg、速效钾 147.7mg/kg。盆栽容器使用直径为 29cm、深度为 27cm 的塑料桶。每桶装风干土 13kg,磷肥和钾肥按照干土施 P_2O_5 0.2g/kg、 KH_2PO_4 0.33g/kg。氮肥设置 3 个水平: N0(不施氮处理, 0kg/hm²)、N1(中氮处理, 112.5kg/hm²)、N2(高氮处理, 225kg/hm²)。装桶前将土与肥料充分混匀。小麦种子用 30% 的 $NaClO_4$ 消毒后,于恒温培养箱中 28℃ 催芽 24h。试验于 2012 年 10 月 19 日播种,每桶 12 穴,每穴播种 2 粒,分蘖前定苗,最终每盆留苗 12 株。从播种到开花前,所有盆栽小麦均充分供水,开花后开始控水。灌浆期设两个水分处理: W1(充分灌水: 土壤含水量为田间持水量的 70%~80%), W2(干旱处理: 土壤含水量为田间持水量的 50%~60%)。试验共 6 个处理,每个处理重复 10 盆,共 60 盆。开花当天即开始控水至子粒成熟考察每盆穗数、穗粒数、千粒重及产量。在控水处理期间,每天通过称重法补充水分。

小麦开花期挂牌标记同一天开花的麦穗,分别于花后 6、12、18、24 和 30d 取样,每次取标记穗的中部小穗 1、2 位子粒用于酶活性的生理测定,经液氮速冻后保存于 -80℃ 冰箱,其他部分于烘箱中 105℃ 杀青 30min,然后在 70℃ 下烘干至恒重,粉碎后用于蔗糖及淀粉含量的测定。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 蔗糖及淀粉含量 蔗糖含量测定采用张志良等^[18]的间苯二酚法,淀粉含量测定采用蒽酮法。

1.2.2 SS 活性 参照 Douglas 等^[19] 和 Ou-Lee 等^[20] 的方法进行测定。

1.2.3 AGPase 活性 参照 Nakamura 等^[21] 的方法进行测定。

1.2.4 SSS 活性 参照文献 Nakamura 等^[21] 的方法进行测定。

1.3 数据分析

数据统计分析使用 SPSS 16.0 软件处理,应用最小显著性差异法(LSD)进行单因素方差分析,Duncan 多重对比分析,显著性水平为 $P < 0.05$,使用 Excel 2007 软件作图。

2 结果与分析

2.1 小麦子粒蔗糖含量

在不同水氮处理下,小麦子粒蔗糖含量在灌浆期间随花后天数增加而下降,子粒中的蔗糖含量在花后 6d 时达到最高,而后随着灌浆进程不断下降,说明子粒中的蔗糖持续不断地被降解为合成淀粉的原料(图 1)。蔗糖含量随氮肥施用量的增加而增加,说明施氮可以保证灌浆期子粒对同化物的需求。在施用氮肥相同的情况下比较不同水分处理发现,与充分灌水相比干旱处理下小麦子粒中的蔗糖含量降低,表明干旱处理可能促进了子粒中蔗糖向淀粉的转化,即分解利用蔗糖的能力增强,合成蔗糖的能力减弱,从而导致蔗糖含量降低;也可能充分灌水处理促进了茎秆中贮藏物质分解(果聚糖分解成蔗糖)并由韧皮部向子粒转运,从而保证库端即子粒灌浆期间对同化物的需求。

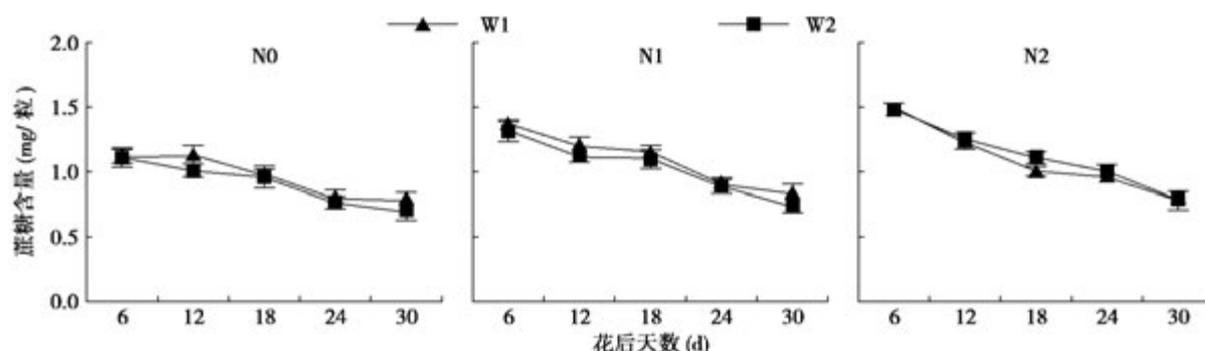


图 1 不同水氮处理对小麦子粒中蔗糖含量的影响

2.2 小麦子粒淀粉积累量

在不同水氮处理下,花后小麦淀粉积累量随花后天数增加呈逐渐增加的趋势,花后 30d 达最

大值。随氮肥施用量增加,小麦淀粉积累量也随之增加。在施用氮肥相同的情况下比较不同水分处理发现,在不施氮和中氮处理下,与充分灌水相

比干旱处理下小麦的淀粉积累量增加,表明在中低氮水平下,干旱处理有利于小麦子粒淀粉的积

累;而在高氮水平下,与充分灌水相比,水分不足会限制子粒中淀粉含量的增加(图2)。

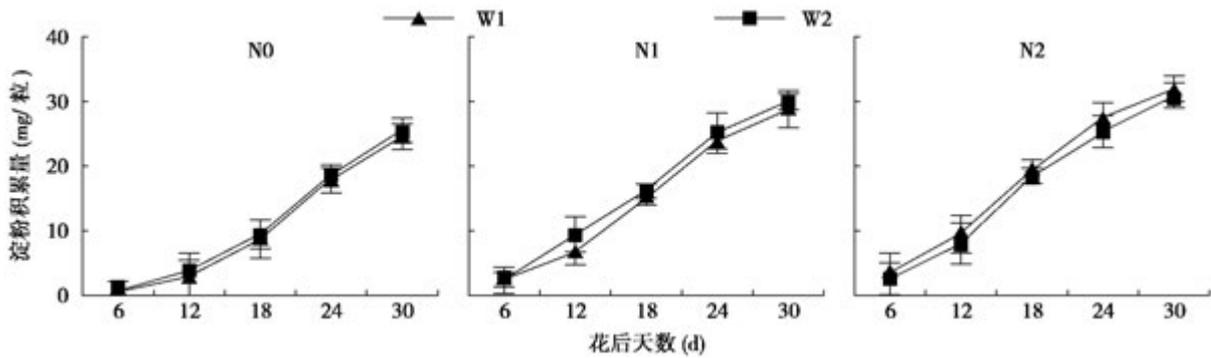


图2 不同水氮处理对小麦子粒淀粉积累量的影响

2.3 蔗糖向淀粉转化过程中的关键酶活性的变化

2.3.1 子粒 SS 活性 SS 在贮藏器官中主要催化蔗糖的降解^[22]。在两种水分处理条件下,小麦子粒 SS 活性均呈先升高再降低的变化趋势,峰值出现在花后 24d(图3)。从图3中可以看出,不同氮肥处理的小麦 SS 对水分的敏感度不同,不施氮及

中氮处理的小麦在灌浆前期充分灌水处理子粒中的 SS 活性要高于干旱处理,表明此时干旱处理可以提高 SS 活性,促进蔗糖的分解。而在高氮水平下,干旱处理的小麦子粒中 SS 活性要高于充分灌水处理,即在氮肥供应充足的情况下,干旱处理使 SS 分解蔗糖的能力升高。

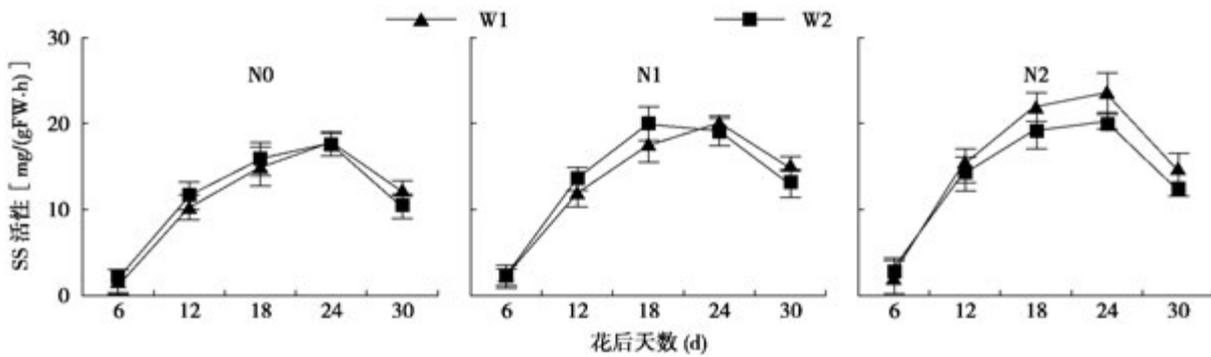


图3 不同水氮处理对小麦子粒中 SS 活性的影响

2.3.2 小麦子粒中 AGPase 的活性 在不同水氮处理下,小麦子粒中 AGPase 活性均呈单峰曲线,峰值出现在花后 24d(图4)。在灌浆前中期,干旱处理的小麦子粒 AGPase 活性要高于充分灌水处

理,但到中后期结果则相反。表明干旱处理有利于增加小麦灌浆前中期子粒 AGPase 活性,充分灌水处理则有利于增加子粒灌浆中、后期 AGPase 活性,提高 ADPG、G1P 供应能力。

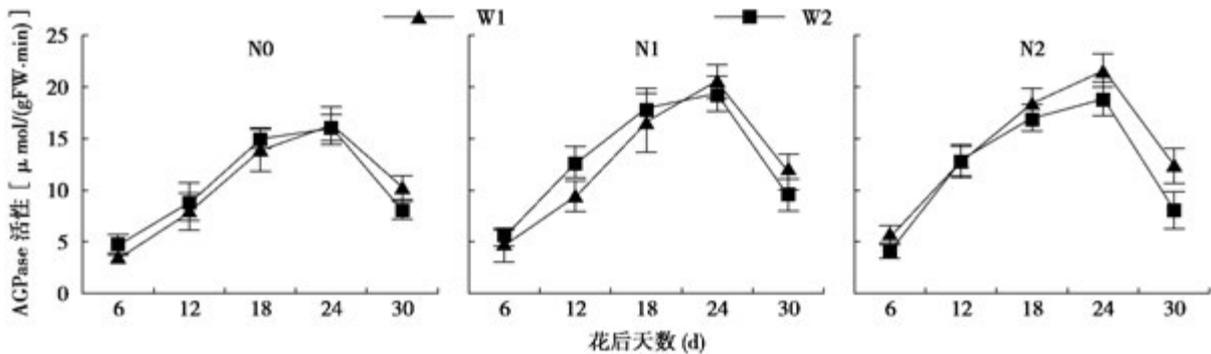


图4 不同水氮处理对小麦子粒中 AGPase 活性的影响

2.3.3 子粒 SSS 活性 在小麦灌浆过程中,子粒中的 SSS 活性呈单峰曲线,峰值出现在花后 24d (图 5)。在灌浆前中期不施氮以及中氮处理下,干旱处理的小麦子粒 SSS 活性要高于充分灌水处

理的小麦,表明干旱处理有利于灌浆前期小麦子粒中淀粉合成能力的提高,充分灌溉有利于灌浆后期小麦子粒较高淀粉合成能力的维持。干旱处理提高了不施氮以及中氮条件下淀粉合成相关酶

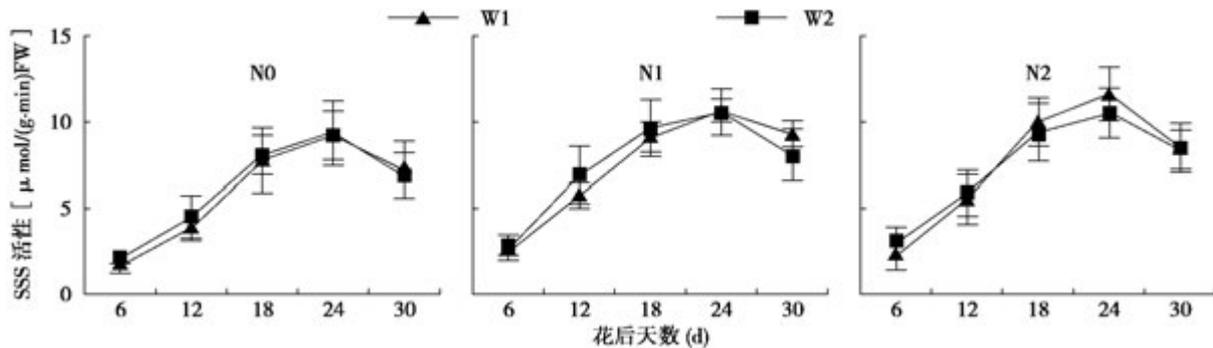


图 5 不同水氮处理对小麦子粒中 SSS 活性的影响

的活性,从而促进了淀粉的积累。

2.4 产量及其构成因素

由表 1 可知,不同水氮处理对小麦子粒产量的影响不同。氮肥施用增加可以显著提高产量,表现为穗数、穗粒数、千粒重均随施氮量增加而增加。而不同水分处理对穗数、穗粒数的影响差异不显著,在中氮水平下,花后干旱处理可以提高产量,主要表现为粒重的增加。

表 1 不同水氮处理对小麦产量构成的影响

处理	每盆穗数	穗粒数	千粒重(g)	产量(g/盆)	
N0	W1	12.00c	25.33c	35.75d	19.88d
	W2	12.00c	25.50c	39.34d	19.50d
N1	W1	19.40b	46.60b	42.95c	35.00c
	W2	19.75b	45.50b	45.83b	37.48b
N2	W1	27.50a	53.25a	47.77a	41.45a
	W2	28.00a	52.50a	44.51ab	40.54a

注: 同列小写字母不同表示不同氮肥和水分处理间在 $P < 0.05$ 水平上差异显著

3 讨论

生产中,水、氮在对子粒产量的调控中存在明显的交互作用,良好的氮素供应可提高小麦根系的吸水能力,从而增加抗旱性,提高小麦产量^[23]。在水分供应充足的情况下,增施氮肥具有很好的增产效应;水分胁迫影响小麦植株对氮素的吸收,使开花后营养器官中的氮素等养分加快向子粒中转移,促进灌浆期的物质转运^[24]。研究表明,小麦子粒淀粉合成相关酶的活性既因子粒发育进程而变化,同时还受干旱、高温、遮阴等环境条件的影响。适当提高氮素水平既能增加小麦子粒淀粉合

成相关酶的活性,又能提高小麦子粒的产量^[25-27]。作物高产不仅需要光合器官有较强的光合能力,而且还要求光合器官(主要是叶片)中合成的碳水化合物能有效的运输与合理的分配^[28]。小麦开花后,光合作用固定的同化物在叶片中经过一系列催化反应合成蔗糖,然后通过韧皮部长距离运输到子粒中,并在子粒中降解为合成淀粉的原料。在小麦子粒构成中,淀粉含量通常占 65%~75%,所以小麦子粒的充实过程主要是淀粉的合成和积累过程^[29]。在小麦灌浆期间,子粒产量形成主要来源于两部分:一是对开花后即时生产的光合产物的运转;二是对开花前暂贮于茎、鞘、壳等营养器官中的贮藏性碳水同化物的再转运^[30]。因此研究外界条件对小麦花后干物质运转的机理非常重要。有研究表明,小麦在灌浆期内受到一定程度的水分亏缺有利于光合同化物向生长中心子粒运输,从而加快灌浆速率^[31]。本研究结果表明在中低氮水平下,干旱处理可以加快干物质的运转,从而提高小麦的产量。

以往研究结果表明,水分供应状况对小麦子粒淀粉合成相关酶活性的影响与子粒灌浆阶段有关^[32-33]。本研究中,淀粉及其合成相关酶活性随灌浆阶段发生变化,3种酶的活性均在花后 24d 达到最大值。酶的活性随氮肥水平的增加而增加,干旱胁迫处理明显提高了灌浆前期小麦子粒中 SS、AGPase 以及 SSS 的活性,降低其灌浆后期上述酶的活性。造成这种现象的原因可能在于灌浆期水分亏缺严重制约了库生理活性,小麦灌浆后期

子粒中淀粉合成相关酶活性因水分供应不足而降低是导致旱作栽培小麦灌浆后期子粒中淀粉积累速率下降的原因之一。

本试验条件下,氮肥可以补偿水分供应不足对产量造成的影响。氮肥主要通过影响小麦穗数和穗粒数来影响产量,干旱处理与充分灌水处理相比,穗数和穗粒数基本保持不变,但千粒重提高,表明干旱处理主要是通过影响千粒重来影响产量的。灌浆前期蔗糖含量较高与较强的光合能力即源的合成能力有关,干旱处理提高了小麦子粒中的蔗糖含量,可能与分解利用蔗糖的能力降低有关,也有可能是因为干旱处理使 SS 活性升高导致蔗糖向淀粉转化能力增强。酶的活性变化是影响干物质含量变化的内在原因,灌浆期干旱处理可以通过改变酶的活性来改变灌浆速率从而影响产量。本研究结果表明,在正常的氮肥水平下,干旱处理能提高灌浆前、中期小麦子粒中蔗糖含量和淀粉合成相关酶活性,而抑制其灌浆后期的相关酶活性。

参考文献

- [1]潘庆民,于振文,王月福,等.追氮时期对小麦旗叶中蔗糖合成与籽粒中蔗糖降解的影响.中国农业科学,2002,35(7):771-776.
- [2]Pierre C S, Peterson C J, Ross A S, et al. Winter wheat genotypes under different levels of nitrogen and water stress: Changes in grain protein composition. Journal of Cereal Science, 2008, 47(3):407-416.
- [3]李永康,于振文.冬小麦旗叶蔗糖和籽粒淀粉合成动态及与其有关的酶活性的研究.作物学报,2001,27(5):658-664.
- [4]孟维伟,张微,于振文.灌水处理对强筋小麦济麦20籽粒淀粉含量和相关酶活性及产量的影响.山东农业科学,2012,44(1):39-42.
- [5]王自布,李卫华,齐军仓,等.小麦籽粒胚乳淀粉合成酶基因表达及酶活性分析.核农学报,2010,24(6):1117-1123.
- [6]谭彩霞,封超年,郭文善,等.不同小麦品种籽粒淀粉合成酶基因的表达及其与淀粉积累的关系.麦类作物学报,2011,31(6):1063-1070.
- [7]Keeling P L, Wood J R, Tyson R H. Starch biosynthesis in developing wheat grain. Plant Physiology, 1988, 87(6):311-319.
- [8]戴忠民,王振林,张敏,等.旱作与节水灌溉对小麦籽粒淀粉积累及相关酶活性变化的影响.中国农业科学,2008,41(3):687-694.
- [9]王东,于振文,李延奇,等.施氮量对济麦20旗叶光合特性和蔗糖合成及籽粒产量的影响.作物学报,2007,33(6):903-908.
- [10]高松洁,郭天财,吴雪峰,等.小麦淀粉合成关键酶与淀粉主要理化特性研究进展.河南农业大学学报,2002,36(4):314-319.
- [11]Zhang C H, Jiang D, Liu F L, et al. Starch granules size distribution in superior and inferior grains of wheat is related to enzyme activities and their gene expressions during grain filling. Journal of Cereal Science, 2010, 51(12):226-233.
- [12]赵辉,戴廷波,荆奇,等.灌浆期高温对两种品质类型小麦品种籽粒淀粉合成关键酶活性的影响.作物学报,2006,32(3):423-429.
- [13]杜晓东,赵宏伟,王敬国,等.氮肥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.
- [14]房全孝,陈雨海,李全起,等.灌溉对冬小麦灌浆期光合产物供应和转化及有关酶活性的影响.作物学报,2004,30(11):1113-1118.
- [15]Goos R J, Schimelefnig J A, Bock B R, et al. Response of spring wheat to nitrogen fertilizers of different nitrification rates. Agronomy Journal, 1999, 91(2):287-293.
- [16]Evans R J, Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L). Plant Physiology, 1983, 72(2):297-302.
- [17]López-Bellido L, Muñoz-Romeroa V, Benítez-Vegaa J, et al. Wheat response to nitrogen splitting applied to a vertisols in different tillage systems and cropping rotations under typical Mediterranean climatic conditions. European Journal Agronomy, 2012, 43(11):24-32.
- [18]张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导.北京:高等教育出版社,2003.
- [19]Douglas C D, Tsung M K, Frederick C F. Enzymes of sucrose and hexose metabolism in development kernels of two inbreds of maize. Plant Physiology, 1988, 86(4):1013-1019.
- [20]Ou-Lee T M, Setter T L. Effect of increased temperature in apical regions of maize ears on starch-synthesis enzymes and accumulation of sugars and starch. Plant Physiology, 1985, 79(3):852-855.
- [21]Nakamura Y, Yuki K, Park S Y, et al. Carbohydrate metabolism in the developing endosperm of rice grains. Plant Cell Physiology, 1989, 30(6):833-839.
- [22]王文静,潘一展.不同类型小麦品种灌浆期蔗糖代谢关键酶的活性变化.华北农学报,2008,23(2):21-24.
- [23]王小燕,于振文.灌水时期和灌水量对小麦氮代谢相关酶活性和籽粒蛋白质品质的影响.西北植物学报,2009,29(7):1415-1420.
- [24]范雪梅,姜东,戴廷波,等.花后干旱或渍水逆境下氮素对小麦籽粒产量和品质的影响.植物生态学报,2006,30(1):71-77.
- [25]李文阳,尹燕桦,闫素辉,等.小麦花后弱光对籽粒淀粉积累和相关酶活性的影响.作物学报,2008,34(4):632-640.
- [26]谭彩霞,封超年,郭文善,等.花后不同时期高温处理下小麦籽粒的淀粉合成及相关酶基因表达.核农学报,2012,26(9):1311-1316.
- [27]闫素辉,尹燕桦,李文阳,等.灌浆期高温对小麦籽粒淀粉的积累、粒度分布及相关酶活性的影响.作物学报,2008,34(6):1092-1096.
- [28]樊廷录,马明生,王淑英,等.限量灌溉不同品种冬小麦茎可溶性糖与产量和水分利用率的关系.中国农业科学,2010,43(12):2428-2434.
- [29]Ehdaie B A, Madore G, Waines M. Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat. Crop Science, 2006, 46(5):2093-2103.
- [30]Cruz-Aguado J A, Rod S R, Ortega E, et al. Partitioning and conversion of ¹⁴C-photoassimilates in developing grains of wheat plants grown under field conditions in Cuba. Field Crops Research, 2001, 69(3):191-199.
- [31]张秋英,刘娜,金剑,等.春小麦籽粒淀粉和蛋白质积累与底物供应的关系.麦类作物,2000,20(1):55-58.
- [32]廖金花,李纪明,吴瑜.小麦淀粉合成酶的研究进展.贵州农业科学,2014,42(2):18-22.
- [33]Zhang H, Li H W, Yuan L M, et al. Post-anthesis alternate wetting and moderate soil drying enhances activities of key enzymes in sucrose-to-starch conversion in inferior spikelets of rice. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(1):215-227.

Effects of Different Water and Nitrogen Treatments on Activities of Enzymes Involved in Starch Synthesis in Wheat Grains

Li Mengjie^{1,2}, Li Hongbing², Zhang Lijuan³, Chen Xiaoli², Li Yulin², Deng Xiping²

(¹College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; ²Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A & F University/State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Yangling 712100, Shaanxi, China; ³College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract Wheat cultivar “Changhan 58” was used for investigating enzymes involved in starch synthesis in grains of wheat through systematic experiments under pot conditions with three nitrogen levels coupling two water treatments. We investigated the effects of different water and nitrogen treatments on sucrose metabolism and activities of enzymes involved in starch synthesis in grains of wheat. We found that drought treatment helped to increase activities of starch accumulation during the early mid filling stage, activities of adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylase (AGPase), sucrose synthase (SS) and soluble starch synthase (SSS). And it would decrease activities of enzymes and starch accumulation during the late filling stage. The results indicated that under the normal nitrogen level, the drought treatment could increase physiological activities of enzymes involving in starch synthesis of wheat grains, and it can also promote the accumulation of starch.

Key words Wheat; Sucrose metabolism; Adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylase (AGPase); Soluble starch synthase (SSS)

欢迎订阅 2016 年《农产品质量与安全》

中国科技核心期刊, 主管: 中华人民共和国农业部, 主办: 中国农业科学院, 支持单位: 农业部农产品质量安全监管局, 协办单位: 农业部农产品质量安全中心、中国绿色食品发展中心, 承办单位: 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所。

主要栏目: 本刊特稿、本刊专稿、政策法规、质量安全监管、无公害农产品、绿色食品、有机农产品、农产品地理标志、农业标准化、检验检测、学科建设与发展、研究与探讨、安全生产技术、地方经验交流、海外博览、农业标准公告、信息与动态等。

读者对象: 与农产品质量安全、农业质量标准和检验检测有关的各级行政管理、科研教学、检验监测、技术推广、生产企业等部门的相关人员。

本刊为双月刊, 逢双月 10 日出版。大 16 开本, 彩色四封, 80 页。全国各地邮局(所)均可订阅, 也可直接到本刊编辑部办理订阅手续。邮发代号: 82-223。每册定价: 10.00 元, 全年共 60.00 元。

通讯地址: 北京市中关村南大街 12 号中国农科院质标所《农产品质量与安全》编辑部, 邮政编码: 100081。联系电话/传真: (010) 82106521、82106522。E-mail: aqs@caas.cn。